



University of Zagreb

Stomatološki fakultet

Nika Španović

**UČINAK BIOAKTIVNOGA STAKLA 45S5
NA FIZIKALNA I KEMIJSKA SVOJSTVA
EKSPERIMENTALNIH KOMPOZITNIH
MATERIJALA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2018.



University of Zagreb

Stomatološki fakultet

Nika Španović

**UČINAK BIOAKTIVNOGA STAKLA 45S5
NA FIZIKALNA I KEMIJSKA SVOJSTVA
EKSPERIMENTALNIH KOMPOZITNIH
MATERIJALA**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

prof. dr. sc. Zrinka Tarle

dr. sc. Hrvoje Skenderović

Zagreb, 2018.



University of Zagreb

School of dental medicine

Nika Španović

**THE EFFECT OF BIOACTIVE GLASS 45S5
ON THE PHYSICAL AND CHEMICAL
PROPERTIES OF EXPERIMENTAL
COMPOSITE MATERIALS**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2018.

Rad je izrađen u Zavodu za endodonciju i restaurativnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zavodu za fiziku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Institutu za fiziku Sveučilišta u Zagrebu.

Povjerenstvo za obranu teme doktorskog rada:

prof. dr. sc. Goranka Prpić-Mehićić

izv. prof. dr. sc. Katica Prskalo

izv. prof. dr. sc. Bernard Janković

dr. sc. Nazif Demoli

doc. dr. sc. Eva Klarić-Sever

Povjerenstvo za obranu doktorskog rada:

prof. dr. sc. Goranka Prpić-Mehićić

izv. prof. dr. sc. Katica Prskalo

doc. dr. sc. Eva Klarić-Sever

izv. prof. dr. sc. Bernard Janković

doc. dr. sc. Ozren Gamulin

Datum obrane: 11. 7. 2018.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Zrinka Tarle, Zavod za endodonciju i restaurativnu stomatologiju,
Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Suvoditelj rada: dr. sc. Hrvoje Skenderović, Institut za fiziku Sveučilišta u Zagrebu

Lektor hrvatskog jezika: Marta Kozina, mag. philol. croat.

Lektor engleskog jezika: Petra Pintarić, prof.

Rad sadrži: 114 stranica

5 tablica

40 slika

1 CD

Zahvala

Hvala svima koji su me vodili na putu otkrivanja novih spoznaja. Osjećam se povlašćeno jer sam dobila mogućnost suradnje i upoznavanja iznimnih znanstvenika i ljudi.

Posebna zahvalnost mojoj mentorici prof. dr. sc. Zrinki Tarle na podršci, razumijevanju i poticanju na znanstveno razmišljanje. Svojim savjetima, prijedlozima, ali i svojom empatijom, vodila me tijekom cjelokupnog pisanja doktorskog rada.

Veliko hvala komentoru dr. sc. Hrvoju Skenderoviću na pomoći i savjetima tijekom provođenja istraživanja u Institutu za fiziku i prof. dr. sc. Ozrenu Gamulinu s Katedre za fiziku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Hvala Mateju Paru, mom kolegi i prijatelju koji mi je uvijek bezrezervna podrška i pomoć.

Sažetak

Remineralizirajući kompozitni materijali temeljeni na bioaktivnom staklu (BG, engl. *bioactive glass*) pokazuju potencijal za prevenciju sekundarnog karijesa s pomoću površinske precipitacije sloja hidroksiapatita te otpuštanja kalcijevih i fosfatovih iona, koji se mogu ugraditi u tvrda zubna tkiva. Svrha ovog rada bila je priprema serije eksperimentalnih kompozitnih materijala s različitim udjelima BG-a i istraživanje njihova potencijala za precipitaciju hidroksiapatita, stupanj konverzije, dubinu polimerizacije, transmitanciju svjetlosti, porast temperature tijekom polimerizacije, apsorpciju vode i solubilnost.

Nakon sedmodnevne imerzije polimeriziranih uzoraka BG kompozita u fosfatima puferiranoj fiziološkoj otopini, na površini se formirao precipitat hidroksiapatita čija je debljina i morfologija ovisila o udjelu BG-a u kompozitu. Kod BG kompozita izmjeren je klinički prihvatljiv stupanj konverzije koji je bio u rasponu komercijalnih kompozita. Pri osvjetljavanju od 20 s svi BG kompoziti postigli su dubinu polimerizacije veću od 2 mm, koliko je propisano standardom za konvencionalne kompozite ISO 4049. Dodatak BG punila u eksperimentalne kompozitne materijale smanjio je maksimalni ostvarivi stupanj konverzije i doveo do strmijeg opadanja stupnja konverzije s porastom debljine kompozitnog sloja. Dodatak BG punila pri težinskom udjelu od 5 % doveo je do značajnog smanjenja svjetlosne transmitancije u usporedbi s materijalom koji je sadržavao samo ojačavajuća punila. Daljnje povećanje težinskog udjela BG do 40 % imalo je relativno malen učinak na svjetlosnu transmitanciju. Porast temperature tijekom svjetlosno aktivirane polimerizacije BG kompozita bio je usporediv ili viši od porasta temperature izmjerenog kod komercijalnih kontrolnih materijala. Povećanje težinskog udjela BG punila u eksperimentalnim kompozitima rezultiralo je nižim porastima temperature. Apsorpcija vode i solubilnost kod eksperimentalnih BG kompozita bile su značajno veće od referentnih vrijednosti propisanih standardom ISO 4049. Vrijednosti apsorpcije vode i solubilnosti kod eksperimentalnih kompozita rasle su s porastom težinskog udjela BG punila. Kontinuirani gubitak mase tijekom 287 dana imerzije u vodi izmjeren kod eksperimentalnih kompozita s težinskim udjelom BG-a od 10 % i više ukazuje na dugoročni remineralizacijski potencijal. Zaključno, istražena svojstva eksperimentalnih BG kompozita pokazuju potencijal za kliničku primjenu.

Ključne riječi: bioaktivno staklo 45S5, bioaktivni dentalni kompoziti, hidroksiapatit, stupanj konverzije, transmitancija svjetlosti, dubina polimerizacije, temperatura, apsorpcija vode, solubilnost, ISO 4049

Extended summary

Title: THE EFFECT OF BIOACTIVE GLASS 45S5 ON THE PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF EXPERIMENTAL COMPOSITE MATERIALS

Aim

Secondary caries is one of the main reasons for the failure of contemporary composite restorations. Bioactive composite materials based on bioactive glass (BG) offer the potential to prevent secondary caries via the release of remineralizing ions and precipitation of the hydroxyapatite layer at their surface. The aim of this study was to prepare a series of experimental composite materials containing variable filler ratios of BG and test some of their basic properties which are important for clinical applicability. The following properties of experimental BG-containing composites were tested: the potential to precipitate hydroxyapatite when immersed in a phosphate buffered saline (PBS) solution, degree of conversion, depth of cure, light transmittance, temperature rise during light curing, water sorption and solubility.

Materials and methods

Five experimental composite materials were prepared with 0 – 40 wt% of BG 45S5 in a resinous matrix of Bis-GMA/TEGDMA in a ratio of 60:40. The experimental composites also contained reinforcing fillers comprising silanized barium glass and silica, up to a total filler load of 70 wt%. To assess the hydroxyapatite precipitation, composite specimens were immersed in PBS for 7 days and examined using Fourier-transform infrared spectroscopy, FT-Raman spectroscopy, scanning electron microscopy and energy dispersive spectroscopy. The degree of conversion was examined as a function of curing time (20 and 40 s) and composite layer thickness (0 – 4 mm) using FT-Raman spectroscopy. The depth of cure was assessed according to the ISO 4049 method and alternatively by determining the depth at which the degree of conversion declined to 80% of the maximum attainable value. Light transmittance was evaluated by real-time measurements of the light transmitted through 2 mm thick composite specimens during light-curing by means of a uv-vis spectrometer.

Temperature rise during light curing was assessed at the bottom of 2 mm thick composite layers using a T-type thermocouple. Water sorption and solubility were measured according to a modified ISO 4049 protocol. Statistical analysis was performed using one-way and mixed model analysis of variance (ANOVA), Welch ANOVA with Tukey, Bonferroni and Games-Howell post-hoc adjustments, as appropriate. Correlations were tested using the Pearson correlation analysis. The global level of statistical significance for all tests was set at 0.05.

Results

Cured specimens of BG-composites formed a surface hydroxyapatite precipitate which was confirmed using infrared spectroscopy and visualized by a scanning electron microscope. Energy dispersive spectroscopy indicated that the precipitate was calcium-deficient hydroxyapatite. The thickness and morphology of the precipitate depended on the ratio of BG fillers in experimental composites. The BG-composites showed a clinically acceptable degree of conversion values which were in the range of commercial composites. For the curing time of 20 s, all of the BG-composites attained the depth of cure higher than 2 mm, as stipulated by the ISO 4049 requirements for conventional composites. The presence of BG fillers in experimental composites decreased the maximum attainable degree of conversion and caused a steeper decline of the degree of conversion values through increasing layer thicknesses. This effect was unrelated to the influence of the BG ratio on light transmittance and could be attributed to a hypothesized direct inhibitory effect of BG fillers on the free radical-mediated polymerization reaction. The addition of 5 wt% of BG fillers caused a significant decline in light transmittance in comparison with the experimental composite containing only reinforcing fillers, whereas a further increase in the BG load of up to 40 wt% showed a minor effect on light transmittance. Temperature rise during light curing of BG-composites was comparable or higher to that measured in commercial control materials. However, the temperature rise produced by BG-composites was within the range of commercial composites reported in the literature. Higher amounts of BG fillers in experimental composites resulted in lower temperature rise and later times at which temperature peak was attained, suggesting a possible effect of BG fillers on polymerization kinetics. Water sorption and solubility in experimental composites were significantly higher than the maximum values stipulated by the ISO 4049. Water sorption and solubility values increased with the increasing amount of

BG fillers in the experimental composite series. A continuous decline in specimen mass during 287 days of water immersion, which was observed in experimental composites with a BG load of 10 wt% or more, indicates a long-term remineralizing potential.

Conclusions

The tested properties of experimental BG-containing composite materials indicate their potential for clinical applicability. Further studies should address mechanical properties and the remineralizing effect on dental hard tissues.

Key words: bioactive glass 45S5, bioactive dental composites, experimental composites, hydroxyapatite, degree of conversion, light transmittance, depth of cure, temperature, water sorption, solubility, ISO 4049

Popis kratica

10-MDP	10-metakriloiloksidecil dihidrogen fosfat (engl. <i>10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate</i>)
ANOVA	analiza varijance (engl. <i>analysis of variance</i>)
ATR	prigušena totalna refleksija (engl. <i>attenuated total reflectance</i>)
BG	bioaktivno staklo (engl. <i>bioactive glass</i>)
Bis-EMA	etoksilirani bisfenol A dimetakrilat (engl. <i>ethoxylated bisphenol-A dimethacrylate</i>)
Bis-GMA	bisfenol A glicidil metakrilat (engl. <i>bisphenol A-glycidyl methacrylate</i>)
DC	stupanj konverzije (engl. <i>degree of conversion</i>)
DRIFT	difuzna refleksija uz Fourierovu transformaciju (engl. <i>Fourier-transform diffuse reflectance</i>)
EDS	energijski disperzivna rendgenska spektroskopija (engl. <i>energy-dispersive X-ray spectroscopy</i>)
FTIR	Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (engl. <i>Fourier-transform infra-red</i>)
FT-Raman	Ramanova spektroskopija s Fourierovom transformacijom (engl. <i>Fourier-transform Raman</i>)
HA	hidroksiapatit
HEMA	hidroksietil metakrilat (engl. <i>hydroxyethyl methacrylate</i>)
ISO	Međunarodna organizacija za standardizaciju (engl. <i>International organization for standardization</i>)

LED	svjetleća dioda (engl. <i>light-emitting diode</i>)
NdYAG	itrij-aluminijev granat dopiran atomima neodimija (engl. <i>neodymium-doped yttrium aluminum garnet</i>)
PBS	fiziološka otopina puferirana fosfatima (engl. <i>phosphate buffered saline</i>)
PET	polietilen-tereftalat
PPM	dijelovi na milijun (engl. <i>parts per million</i>)
SEM	rasterski elektronski mikroskop
s. d.	standardna devijacija
TEC	Tetric EvoCeram
TEF	Tetric EvoFlow
TEGDMA	trietilen glikol dimetakrilat (engl. <i>triethyleneglycol dimethacrylate</i>)
UDMA	uretan dimetakrilat (engl. <i>urethane dimethacrylate</i>)

SADRŽAJ

1. Uvod	1
1.1. Kompozitni materijali u dentalnoj medicini	2
1.1.1. Sastav kompozitnih materijala	2
1.1.2. Svojstva kompozitnih materijala	3
1.1.3. Polimerizacija kompozitnih materijala	5
1.1.4. Nove formulacije kompozitnih materijala	5
1.1.5. Sekundarni karijes kod kompozitnih restauracija	7
1.2. Bioaktivni i remineralizirajući kompozitni materijali	8
1.2.1. Sastav	8
1.2.2. Svojstva	9
1.3. Bioaktivni kompozitni materijali temeljeni na bioaktivnom staklu	10
1.3.1. Bioaktivna stakla	10
1.3.2. Svojstva kompozitnih materijala s bioaktivnim staklom	11
1.4. Stupanj konverzije	12
1.5. Svjetlosna transmitancija	16
1.6. Porast temperature tijekom polimerizacije	18
1.7. Apsorpcija vode i solubilnost	19
1.8. Dubina polimerizacije prema ISO 4049	21
2. Opći i specifični ciljevi rada	22

3. Materijali i metode	25
3.1. Priprema eksperimentalnih kompozitnih materijala	26
3.2. Precipitacija hidroksiapatita	31
3.3. Stupanj konverzije	32
3.4. Svjetlosna transmitancija	34
3.5. Dubina polimerizacije prema ISO 4049	36
3.6. Porast temperature tijekom polimerizacije	36
3.7. Apsorpcija vode i solubilnost	36
3.8. Statistička analiza	38
4. Rezultati	40
4.1. Precipitacija hidroksiapatita	41
4.2. Stupanj konverzije	49
4.3. Transmitancija svjetlosti	55
4.4. Dubina polimerizacije prema ISO 4049	59
4.5. Porast temperature tijekom polimerizacije	61
4.6. Apsorpcija vode i solubilnost	65
5. Rasprava	69
5.1. Precipitacija hidroksiapatita	70
5.2. Stupanj konverzije	72
5.3. Transmitancija svjetlosti	76
5.4. Dubina polimerizacije prema ISO 4049	79

5.5. Porast temperature tijekom polimerizacije	80
5.6. Apsorpcija vode i solubilnost	83
5.7. Buduća istraživanja	87
6. Zaključci	89
7. Literatura	92
8. Životopis autora s popisom objavljenih radova	113

1. UVOD

1.1. Kompozitni materijali u dentalnoj medicini

Kompozitni materijali pojavili su se 1950-ih godina kao restaurativni materijali za estetske ispune na prednjim zubima (1). Najranije generacije dentalnih kompozita karakterizirala su skromna mehanička svojstva, niska otpornost na abraziju i nestabilnost boje (2). Znatna unaprjeđenja niza svojstava kod suvremenih kompozitnih materijala omogućila su njihovu primjenu za gotovo svaku restaurativnu indikaciju (3). Prema mehaničkim svojstvima, današnji su kompoziti usporedivi s dentalnim amalgamima, dok estetskim svojstvima uvelike nadmašuju sve ostale materijale za izradu izravnih restauracija (4).

1.1.1. Sastav kompozitnih materijala

Općeniti sastav kompozitnih materijala uključuje organsku smolastu matricu, anorgansko punilo i svezujuće sredstvo koje služi kao posrednik za kemijsko svezivanje između čestica punila i polimerne matrice (5). Smolasta matrica temelji se na različitim kombinacijama bifunkcijskih metakrilata (6). Miješanjem pojedinih metakrilatnih monomera u različitim omjerima moguće je prilagoditi viskoznost i reaktivnost smolaste matrice kako bi se postigao optimalan stupanj konverzije (DC, prema engl. *degree of conversion*), brzina reakcije i učinkovitost polimerizacije, a time i mehanička svojstva (7). Tijekom razvoja dentalnih kompozita sastav smolaste matrice nije se značajnije mijenjao, stoga većina suvremenih kompozitnih formulacija sadržava klasične monomere poput Bis-GMA, Bis-EMA i TEGDMA (8). Postoje i novi monomeri koji kompozitnim materijalima daju specifična svojstva (9), ali tržištem kompozitnih materijala dominiraju klasične metakrilatne formulacije (10).

Anorgansko punilo sačinjeno je od stakla i keramike različitog sastava (5). Tijekom razvoja dentalnih kompozita veličina čestica punila sustavno je smanjivana s ciljem poboljšanja svojstava (11). Najranija generacija kompozita bila je punjena tzv. makročesticama, što je imalo za posljedicu slabu poliranost površine (12). Navedeni nedostatak savladan je u daljnjem razvoju dentalnih kompozita smanjenjem dimenzija čestica punila na tzv. mikrodimenzije. Međutim, male su čestice svojom velikom površinom ograničavale udio punila u smolastoj matrici, što je dovelo do slabijih mehaničkih svojstava i ograničene indikacije za primjenu u područjima s niskim žvačnim silama (13). U daljnjem razvoju formulirani su hibridni kompozitni materijali koji sadržavaju barem dvije skupine čestica

različitih dimenzija, što je dovelo do značajnih poboljšanja mehaničkih svojstava optimizacijom pakiranja čestica u smolastoj matrici, odnosno omogućavajući veće udjele punila (14). Većina suvremenih kompozitnih materijala pripada skupini hibridnih kompozita, a termini pojedinih proizvođača poput mikrohibridnih, submikrohibridnih i nanohibridnih predstavljaju umjetnu podjelu koja je marketinški motivirana i nije pokazatelj stvarne raspodjele veličine čestica (15). Manja skupina suvremenih kompozita istinski su *nano-punjeni* materijali čije je punilo isključivo sastavljeno od pojedinačnih nanočestica ili njihovih aglomerata (16). Ova je skupina materijala prema svojstvima slična prethodno spomenutim hibridnim kompozitima.

Svezujuće sredstvo prekriva površinu čestica anorganskog punila na koje se veže s pomoću Si-O veza, a ima i slobodne C=C veze s pomoću kojih ostvaruje kemijsku vezu s metakrilatnim polimerom (17). Kao sredstvo uobičajeno se koriste različite molekule silana (18), a najčešće je to gamametaoksiopropiltrimetoksisilan. Svezujuće sredstvo igra važnu ulogu u raspodjeli opterećenja između anorganskog punila karakteriziranog visokim modulom elastičnosti i metakrilatnog polimera sa značajno nižim modulom elastičnosti (5). Degradacija Si-O veza između čestica punila i polimerne matrice posredstvom vode, salivarnih i bakterijskih enzima te cikličkih mehaničkih opterećenja odgovorna je za slabljenje mehaničkih svojstava kompozitnog materijala uzrokovanog starenjem kompozitnog materijala u vodenom mediju (19). Stoga je za otpornost kompozitnog materijala na degradaciju u oralnoj sredini od presudne važnosti postojanost veze između punila i smolaste matrice posredovana molekulama silana (20).

Ostali sastojci kompozitnih materijala zastupljeni su u manjim količinama, a uključuju fotoiniciatore, inhibitore polimerizacije, pigmente i stabilizatore boje (21).

1.1.2. Svojstva kompozitnih materijala

Svojstva kompozitnih materijala odraz su njihove strukture, a ona ovisi o pojedinim sastojcima materijala te o uvjetima polimerizacije (22, 23). Sastav suvremenih kompozitnih materijala precizno je uravnotežen kako bi se optimizirala klinički važna svojstva. Međutim, svaka izmjena sastava s ciljem poboljšanja određene karakteristike materijala neizbježno dovodi do promjene ostalih svojstava, često na nepovoljan način (24). Primjerice, promjene smolaste matrice koje omogućavaju visok DC kao posljedicu imaju nepoželjno povećanje

polimerizacijskog skupljanja (25). Dodatan su primjer poboljšanja mehaničkih svojstava povećanjem udjela anorganskog punila, što dovodi do povećanja viskoznosti materijala koje pak utječe na rukovanje u kliničkoj primjeni (7).

U razvoju novih eksperimentalnih materijala nastoji se što više približiti sljedećim idealnim svojstvima:

- otpornost na žvačne sile i ciklička opterećenja
- otpornost na hidrolitičku degradaciju
- poliranost površine
- otpornost na abraziju
- abrazivna svojstva usklađena s caklinom
- visok DC i umreženost polimera
- usklađenost optičkih svojstava s tvrdim zubnim tkivima
- niska apsorpcija vode i solubilnost
- stabilnost u vodenom mediju
- modul elastičnosti usklađen s modulom elastičnosti tvrdih zubnih tkiva
- biokompatibilnost
- antibakterijski učinak
- radiokontrastnost
- visoka stabilnost boje
- dostatno radno vrijeme uz ambijentalnu rasvjetu
- lako rukovanje
- što veća debljina sloja koji je moguće samostalno polimerizirati
- brza polimerizacija

Suvremeni kompozitni materijali zadovoljavaju većinu navedenih svojstava, međutim varijabilnosti postoje ovisno o sastavu pojedinog proizvoda (13, 26). Primjerice, materijali tamnijih nijansi slabije propuštaju polimerizacijsku svjetlost, što ograničava debljinu sloja u kojem se mogu postavljati (27). S druge strane, veća debljina sloja kod nekih materijala postignuta je povećanjem svjetlosne transmisije, što pak ima neželjen učinak na estetska svojstva (28). Bioaktivni kompozitni materijali koji otpuštaju fluoridne ione pokazuju nakon starenja veću hrapavost površine od konvencionalnih kompozita (29). Samoadhezivni kompozitni materijali sadržavaju hidrofilne monomere i pokazuju veću apsorpciju vode,

solubilnost te izraženiju degradaciju mehaničkih svojstava sa starenjem u usporedbi s konvencionalnim materijalima (30). Navedeni primjeri pokazuju kako poboljšanje određenog svojstva ili uvođenje novog svojstva može dovesti do slabljenja ostalih klinički važnih svojstava.

1.1.3. Polimerizacija kompozitnih materijala

Kompozitni materijali temeljeni na metakrilatnim smolama stvrdnjavaju se polimerizacijskom reakcijom posredovanom slobodnim radikalima (31). Izvor slobodnih radikala inicijatorski je sustav koji može biti aktiviran kemijski ili svjetlosno (32). Kompozitni materijali koji se stvrdnjavaju kemijskom aktivacijom sastoje se od dviju komponenata čijim se miješanjem aktivira polimerizacijska reakcija (33). Povijesno gledano, kod prvih kompozitnih materijala polimerizacija je bila aktivirana kemijski, dok kod suvremenih kompozita dominira svjetlosna aktivacija (34). Kemijska aktivacija polimerizacije kod današnjih materijala zadržana je u dvostruko polimerizirajućim kompozitnim cementima (35). Glavne su prednosti svjetlosne aktivacije poboljšana kontrola vremena manipulacije materijalom, jednostavnije rukovanje (nije potrebno miješanje) i manja poroznost materijala (36). Za svjetlosnu aktivaciju polimerizacije najčešće se primjenjuje tradicionalni sustav kamforkinona i tercijarnog amina (37). Međutim, postoje i noviji sustavi koji su unatoč većoj učinkovitosti razmjerno rijetko zastupljeni u komercijalnim kompozitnim materijalima (38). Najčešće se koriste u vrlo svijetlim nijansama kako bi se izbjeglo žuto obojenje uzrokovano kamforkinonom ili kao dodatni inicijatori u kombinaciji sa sustavom kamforkinona i tercijarnog amina (39). Nedostatak navedenih fotoinicijatorskih sustava je nepodudarnost njihova apsorpcijskog spektra s uskim emisijskim spektrom LED (eng. *light emitting diode*) polimerizacijskih uređaja koji je prilagođen apsorpcijskom spektru kamforkinona oko 470 nm (40). Ovaj nedostatak savladan je razvojem novih LED polimerizacijskih uređaja s proširenim emisijskim spektrom koji pokriva apsorpcijske spektre svih fotoinicijatora (41).

1.1.4. Nove formulacije kompozitnih materijala

Iako najveći broj suvremenih kompozita pripada konvencionalnim materijalima temeljenim na *tradicionalnim* metakrilatnim smolama punjenima česticama silaniziranog stakla, na tržištu su dostupni i materijali inovacijskih svojstava (42, 43).

Za pojednostavljenje kliničkog postupka najatraktivnija su skupina novih materijala tzv. *bulk-fill* kompozitni materijali koji omogućavaju postavljanje u slojevima debljine 4 mm ili više (44, 45), za razliku od konvencionalnih materijala kojima je debljina sloja ograničena na 2 mm (46). Veća debljina kompozitnog sloja omogućena je: (I) povećanjem transmisije polimerizacijske svjetlosti kroz kompozitni materijal povećanjem veličine čestica punila i usklađivanjem indeksa loma između punila i smole (28), (II) dodatkom sustava fotoinicijatora koji je učinkovitiji pri slabom intenzitetu polimerizacijske svjetlosti od uobičajenog sustava kamforkinon / tercijarni amin (47) i (III) smanjenjem stresa zbog polimerizacijskog skupljanja smanjenjem elastičnog modula ili promjenom kinetike polimerizacijske reakcije (48). Estetski nedostaci ranih *bulk-fill* kompozitnih materijala koji proizlaze iz njihove visoke translucencije uglavnom su savladani, stoga su estetska svojstva današnjih *bulk-fill* kompozitnih materijala usporediva sa svojstvima konvencionalnih kompozita (49).

Materijali s niskim polimerizacijskim skupljanjem (engl. *low shrinkage*) predstavljaju skupinu kompozitnih materijala koja je razmjerno nejasno definirana s obzirom na nedostatak konkretne definicije kriterija za svrstavanje materijala u ovu skupinu (50). Nadalje, marginalni integritet kompozitnog ispuna ovisi o polimerizacijskom stresu, a ne o samom polimerizacijskom skupljanju (51). Važan čimbenik u razvoju polimerizacijskog stresa je povećanje modula elastičnosti tijekom stvrdnjavanja kompozitnog materijala (52). Istraživanja su pokazala da kompozitni materijali s niskim polimerizacijskim skupljanjem imaju polimerizacijski stres usporediv s konvencionalnim materijalima, stoga pozitivan učinak niskog skupljanja izostaje (53). Važno je razlikovati kompozitne materijale s niskim skupljanjem od *bulk-fill* materijala, koji se katkad karakteriziraju kao *low shrinkage* materijali. Naime, kategorija materijala s niskim skupljanjem podrazumijeva primjenu u slojevima konvencionalne debljine (2 mm), dok je kod *bulk-fill* materijala uobičajena debljina sloja 4 mm (54).

Remineralizirajući kompozitni materijali s punilima od pre-reagiranoj staklenog ionomera poznati su pod tržišnim nazivom „giomer“ (55). Ovi materijali otpuštaju fluoridne i druge remineralizirajuće ione sa svrhom zaštite tvrdih zubnih tkiva od sekundarnog karijesa (56). Giomeri su dostupni kao konvencionalni, tekući i *bulk-fill* materijali. Odlikuju se povoljnim estetskim i mehaničkim svojstvima koja su usporediva sa svojstvima konvencionalnih materijala (57). Međutim, klinički dokazi njihove prednosti pred konvencionalnim kompozitima još uvijek nisu dostupni (58).

Samoadhezivni kompozitni materijali sadržavaju kisele monomere koji omogućavaju istovremeno jetkanje i infiltraciju demineraliziranog tvrdog zubnog tkiva, slično kao kod samojetkajućih adheziva (30). Sadržavaju i funkcionalne monomere poput 10-MDP-a, koji osim mikromehaničke retencije osiguravaju i kemijsku svezu (59). Iako je koncept samoadhezivnih kompozita vrlo atraktivan s kliničkog aspekta, ova skupina materijala karakterizirana je niskim mehaničkim svojstvima, visokom hidrofilnošću, apsorpcijom vode i solubilnošću, što ih čini inferiornima u usporedbi s konvencionalnim kompozitima (60, 61).

1.1.5. Sekundarni karijes kod kompozitnih restauracija

Sekundarni karijes ima sličnu etiopatogenezu poput primarnog karijesa: bakterijski produkti metabolizma ugljikohidrata snižavaju lokalnu pH-vrijednost, što dovodi do demineralizacije tvrdih zubnih tkiva (62). Kontinuirana demineralizacija u sprezi s nedostatnom remineralizacijom dovodi do neto gubitka minerala u tvrdom zubnom tkivu, gubitku njegova integriteta, bakterijske invazije i nastanka karijesa (63). Glavna je značajka sekundarnog karijesa njegov razvoj na granici ispuna i tvrdog zubnog tkiva, čemu najvjerojatnije pogoduje mikropukotina između zubnog kaviteta i ispuna (64).

Pojedine skupine restaurativnih materijala razlikuju se prema sklonosti za razvoj sekundarnog karijesa (65). Staklenoionomerni cementi otpuštaju remineralizirajuće ione i imaju određeni antibakterijski učinak te na taj način sprečavaju pojavu sekundarnog karijesa (66). Dentalni amalgami otpuštaju korozijske produkte kojima brtve prostor mikropukotine, a imaju i određeni antibakterijski učinak (67). S druge strane, kompozitni materijali ne pokazuju ni jedno od navedenih djelovanja koje bi preveniralo sekundarni karijes, a uz to pogoduju nakupljanju kariogenih mikroorganizama na površini ispuna (68). Stoga se kompozitni materijali smatraju najpodložnijima za razvoj sekundarnog karijesa od svih materijala za izravne restauracije (65). U teoriji bi pojavu sekundarnog karijesa bilo moguće spriječiti ostvarivanjem besprijekornog brtvljenja spoja između tvrdog zubnog tkiva i restauracije s pomoću kvalitetnog adhezijskog sustava. Međutim, to u praksi nije ostvarivo jer navedeni spoj u kliničkim uvjetima uvijek pokazuje gubitak kontinuiteta koji mogu invadirati kariogeni mikroorganizmi (69).

Pojava sekundarnog karijesa u literaturi se često navodi kao jedan od glavnih uzroka neuspjeha suvremenih kompozitnih restauracija (70). Unatoč iznimnim unaprjeđenjima

svojstava kompozitnih materijala posljednjih nekoliko desetljeća, problem sekundarnog karijesa još uvijek nije riješen (71). Budući da svi kompozitni materijali temeljeni na metakrilatnim smolama pokazuju određeni stupanj polimerizacijske kontrakcije (72), nastanak marginalne pukotine i njezina kolonizacija bakterijama su neizbježni (73). Stoga su istraživanja bioaktivnih kompozita usmjerena na razvoj antibakterijskih i remineralizacijskih svojstava kako bi se smanjio rizik pojave sekundarnog karijesa uzrokovanog marginalnim propuštanjem (74).

1.2. Bioaktivni i remineralizirajući kompozitni materijali

1.2.1. Sastav

Bioaktivni kompozitni materijali po temeljnom su sastavu i načinu primjene slični konvencionalnim kompozitima (75). Kao smolastu matricu koriste poznate bifunkcijske metakrilatne monomere (npr. Bis-GMA, TEGDMA, Bis-EMA, UDMA), a zbog povećanja hidrofilnosti u svojem sastavu mogu imati i monofunkcijski monomer HEMA, koji se inače ne nalazi u konvencionalnim kompozitima (76).

Glavni sastojak koji osigurava bioaktivna svojstva topljiva su punila koja pri izlaganju vodenom mediju otpuštaju različite ione (76-79). Kemijski sastav i veličina čestica bioaktivnog punila određuju njegovu topljivost i dinamiku otpuštanja iona u vodi (80). Na remineralizirajući učinak utječu i svojstva smolaste matrice čija hidrofilnost regulira difuziju vode do bioaktivnog punila te difuziju otpuštenih iona iz restauracije (81). Usklađivanjem kemijskog sastava bioaktivnog punila, veličine čestica i udjela punila moguće je pripremiti kompozitne materijale različitih karakteristika i dinamike otpuštanja iona. Otpuštanje iona iz čestica bioaktivnog punila jednosmjernan je i, s kemijskog aspekta, nepovratan proces (82), što znači da nije moguće „dopunjavanje“ kompozitne restauracije topikalno primijenjenim ionima, kao što je slučaj kod staklenoionomernih ispuna (83). Međutim, primjenom posebnih monomera koji mogu vezati ione iz topikalno primijenjenih otopina za remineralizaciju moguće je formulirati materijal koji će reverzibilno otpuštati i vezivati remineralizirajuće ione te na taj način omogućiti dopunjavanje poput onog kod staklenoionomernih cemenata (77).

Uz bioaktivna punila, bioaktivni kompoziti sadržavaju i stabilna ojačavajuća punila koja su po kemijskom sastavu čestice različitih stakala i silike površinski tretirane molekulama silana (25, 84). Budući da bioaktivno punilo ne smije biti silanizirano kako sloj silana ne bi ometao

otpuštanje iona (85), bioaktivna punila ne mogu sudjelovati u raspodjeli sila između čestica punila i smolaste polimerne matrice. Stoga ona ne mogu poboljšavati mehanička svojstva poput stabilnih silaniziranih punila, naprotiv, oslabljuju kompozitnu strukturu. Navedeni nedostatak može se do određene mjere kompenzirati dodatkom ojačavajućih punila (86). U načelu, mehanička svojstva bioaktivnih kompozita ovise o relativnom udjelu nestabilnih bioaktivnih i stabilnih ojačavajućih punila (84).

Inicijatori polimerizacije u bioaktivnim eksperimentalnim kompozitima načelno su isti kao i kod konvencionalnih materijala (87). Preferirani je način inicijacije polimerizacije s pomoću vidljive svjetlosti, iako se kod nekih materijala s niskom svjetlosnom transmisijom koriste i kemijski inicijatori (88). Najčešći sustav fotoinicijatora kod eksperimentalnih bioaktivnih kompozita klasični je sustav kamforkinona i tercijarnog amina (89). Od ostalih sastojaka prisutni su inhibitori polimerizacije, dok se razni aditivi poput stabilizatora boje i pigmenata ne dodaju eksperimentalnim kompozitima jer u aktualnoj fazi razvoja prednost u istraživanjima imaju temeljna svojstva (bioaktivnost i mehanička svojstva), dok su estetska svojstva manje važna.

1.2.2. Svojstva

Glavna svojstva koja bioaktivne kompozitne materijale razlikuju od konvencionalnih mogu se podijeliti u dvije skupine: antibakterijsko djelovanje (90) i remineralizacijski učinak (91). Antibakterijsko djelovanje postiže se dodatkom različitih antimikrobnih spojeva koji se otpuštaju iz kompozitne restauracije ili ostaju vezani unutar strukture kompozitnog materijala te pokazuju inhibitorni učinak u kontaktu s mikroorganizmima (91). Uz navedene spojeve već i samo otapanje remineralizirajućih punila ostvaruje određeni antimikrobni učinak s obzirom na to da je popraćeno lokalnim porastom pH-vrijednosti (92).

Za remineralizacijski učinak odgovorna su bioaktivna punila koja se u kontaktu s vodom otapaju i otpuštaju ione (93). Primjer su punila od amorfnog kalcijeva fosfata koji se u vodenom mediju postupno kristalizira u termodinamički stabilniji hidroksiapatit (HA), pri čemu u okolni medij otpušta kalcijeve i fosfatove ione (94). Punila od amorfnog kalcijeva fosfata prisutna u dostatnom udjelu (oko 40 % težinski) u hidrofilnoj smolastoj matrici omogućavaju postizanje koncentracije kalcijevih i fosfatovih iona, koja je prezasićena u odnosu na HA, što dovodi do precipitacije HA u demineraliziranim tvrdim zubnim tkivima

(95). Slično ponašanje pokazuju i ostali kalcijevi fosfati koji se međusobno razlikuju po stabilnosti i topljivosti u vodenoj otopini, a time pokazuju različitu dinamiku otpuštanja iona i zahtijevaju različite formulacije smolaste matrice (80).

Glavni nedostatak svih bioaktivnih remineralizirajućih kompozita nužan je kompromis između bioaktivnosti i ostalih važnih svojstava. Naime, prisutnost određene količine nesilaniziranog i topljivog punila negativno utječe na brojna druga svojstva, prije svega na čvrstoću, tvrdoću, modul elastičnosti i degradaciju u vodenom mediju (96). Stoga se istraživanja bioaktivnih kompozita u načelu svode na optimizaciju relativnog udjela bioaktivnog i ojačavajućeg punila te prilagodbu hidrofilnosti smolaste matrice. Naime, određeni je stupanj hidrofilnosti nužan kako bi se osigurala izmjena iona, ali prekomjerno povećanje hidrofilnosti kompozitnog materijala dovodi do veće apsorpcije vode i ubrzane degradacije te slabljenja mehaničkih svojstava (19).

1.3. Bioaktivni kompozitni materijali temeljeni na bioaktivnom staklu

1.3.1. Bioaktivna stakla

Termin *bioaktivna stakla* obuhvaća topljiva stakla različitih sastava, a oni se temelje na SiO_2 , CaO , Na_2O i P_2O_5 u različitim omjerima (97). Topljivost bioaktivnih stakala određena je relativnim udjelima navedenih glavnih sastojaka i mogućim modifikacijama dodatkom niskih koncentracija drugih spojeva (98). Medicinska primjena biostakala počela je u ortopediji 1950-ih godina u obliku površinskog sloja na koštanim implantatima koji je poboljšavao oseointegraciju (99). Prva komercijalizirana formulacija nazvana 45S5 sastoji se od 45 % SiO_2 , 25 % Na_2O , 25 % CaO i 5 % P_2O_5 i karakterizira je visoka bioaktivnost, zbog čega se u primjeni zadržala sve do danas, bez obzira na razvoj mnogobrojnih novih formulacija (99).

Pri izlaganju vodenom mediju, u BG-u se odvija niz reakcija koje naposljetku dovode do površinskog taloženja HA (100). Niz reakcija započinje izmjenom natrijevih i kalcijevih iona s površine BG-a i vodikovih iona iz vodenog medija, što rezultira stvaranjem Si-OH skupina i razvojem površinskog sloja bogatog silikom. Zbog povišenja lokalne pH-vrijednosti, Si-O-Si veze reagiraju s hidroksilnim skupinama, a silika se otapa u obliku $\text{Si}(\text{OH})_4$. Kondenzacijom Si-OH skupina, sloj bogat silikom repolimerizira se i iz vodenog medija privlači kalcijeve i fosfatove ione koji se talože na površini BG-a u obliku amorfnog kalcijeva fosfata. Sazrijevanjem u vodenom mediju amorfni kalcijev fosfat prelazi u kristalni HA. Otpuštanje

iona i snižavanje pH-vrijednosti tijekom opisanog niza procesa temeljni su mehanizmi kojima se ostvaruje remineralizirajući i antibakterijski učinak eksperimentalnih kompozita temeljenih na BG-u (92, 101).

1.3.2. Svojstva kompozitnih materijala punjenih bioaktivnim staklom

Posljednjih desetak godina intenzivirala su se istraživanja eksperimentalnih dentalnih materijala s dodatkom BG-a. Objavljeni rezultati mnogobrojnih istraživanja ukazuju na višestruke povoljne učinke BG-a kao punila u eksperimentalnim kompozitnim materijalima i adhezijskim sustavima. U nastavku je naveden kratak pregled najvažnijih nalaza recentnih istraživanja:

- eksperimentalni kompozitni materijali s težinskim udjelom BG-a od 15 % spriječili su penetraciju bakterija kroz marginalnu pukotinu zahvaljujući površinskoj precipitaciji HA (102)
- dodatak BG punila pri težinskim udjelima do 15 % u komercijalni tekući kompozitni materijal omogućio je površinsku precipitaciju HA i antibakterijski učinak, bez negativnog učinka na snagu sveze kompozita s caklinom ili dentinom (103)
- prisutnost bakterijskog biofilma na površini eksperimentalnih BG kompozita nije spriječila precipitaciju HA (104)
- eksperimentalni kompozitni materijali s težinskim udjelom BG-a od 50 % u Bis-GMA/TEGDMA/HEMA matrici remineralizirali su potpuno demineralizirani dentin i inhibirali metaloproteinaze matriksa, pri čemu su fosfatima bogata BG punila bila učinkovitija od klasičnog BG 45S5 (105)
- Bis-GMA/TEGDMA smola s dodatkom BG punila remineralizirala je caklinu u simuliranim kariogenim uvjetima *in vitro* (106)
- eksperimentalni kompozitni materijali s BG punilima, koja u svojem sastavu imaju fluoride, otpuštali su kalcijeve i fluoridne ione te pokazali sposobnost dopunjavanja otpuštenih iona tijekom topikalnog izlaganja otopini fluorida koncentracije 5000 ppm (93)
- BG prah primijenjen izravno na umjetno pripremljenu inicijalnu leziju (bijelu pjegu) na caklini može potaknuti remineralizaciju (107)

- izravnom primjenom BG-a na površinu dentina može se remineralizirati djelomično i potpuno demineraliziran dentin (108)
- BG može povećati udio minerala u demineraliziranom dentinu, ali bez poboljšanja mehaničkih svojstava (109)
- uključivanje BG punila u eksperimentalni jetkajuće-ispirujući adhezivni sustav može spriječiti degradaciju snage svezivanja za dentin (110)
- dodatak BG punila u eksperimentalni jetkajuće-ispirujući adhezivni sustav temeljen na Bis-GMA/HEMA/PMDM smoli omogućava precipitaciju HA i sprečava degradaciju snage sveze tijekom desetomjesečne imerzije u vodi (111, 112)
- BG punila u eksperimentalnom adhezijskom sustavu temeljenom na Bis-GMA/HEMA/PMDM smoli mogu spriječiti degradaciju sveze nakon šest mjeseci (113)
- eksperimentalni adhezijski sustavi s BG punilima smanjuju mikropermeabilnost međugraničnog spoja dentina i smole precipitacijom HA (114)
- eksperimentalni adhezijski sustavi s BG punilima mogu potaknuti intrafibrilarnu remineralizaciju kolagena u dentinu (115)
- BG punila u adhezijskim sustavima mogu smanjiti degradaciju kolagena posredovanu matriks metaloproteinazama (116)
- antibakterijski učinak koji se postiže u izravnom dodiru s BG česticama objašnjava se povećanjem pH zbog njihova otapanja (117), međutim postoje i dokazi o antibakterijskom učinku BG-a neovisno o porastu pH (118)
- BG čestice nanometarskih dimenzija pokazuju izraženiji antibakterijski učinak, otpuštanje silike i porast pH u usporedbi s česticama mikrometarskih dimenzija (119)
- biofilm bakterijske vrste *streptococcus mutans* može povećati površinsku hrapavost kompozita koji sadržava BG punila, s mogućim posljedicama na daljnju akumulaciju bakterija (29).

1.4. Stupanj konverzije

DC je temeljno svojstvo polimeriziranog kompozitnog materijala o kojem ovisi većina ostalih svojstava, prvenstveno biokompatibilnost i otpornost na mehanička opterećenja (120). DC je definiran kao omjer dvostrukih C=C veza koje su tijekom polimerizacije pretvorene u jednostruke (121). Idealna situacija u kojoj bi DC dosegao 100 % nije ostvariva u stvarnim

uvjetima polimerizacije bifunkcijskih metakrilatnih smola jer porast viskoznosti tijekom polimerizacije imobilizira molekule monomera i ograničava DC na oko 50 – 80 % (122). Kod nekih eksperimentalnih kompozita s niskoviskoznim i stoga vrlo mobilnim smolastim matricama moguće je postići i više vrijednosti DC-a, gotovo do 90 % (123).

Vrijednosti DC-a ovise o interakciji mnogobrojnih čimbenika koji se mogu podijeliti na intrinzične i ekstrinzične. Intrinzični čimbenici odnose se na viskoznost i mobilnost smolaste matrice, vrstu, veličinu i udio čestica punila, površinsku silanizaciju čestica punila te učinkovitost sustava fotoinicijatora (124-126). Primjerice, mobilnije molekule monomera poput TEGDMA i HEMA povećavaju DC jer poboljšavaju mobilnost smole tijekom polimerizacije i odgađaju točku gelacije u kojoj dolazi do imobilizacije i zarobljavanja molekula monomera unutar polimerne mreže koje posljedično ne mogu sudjelovati u reakciji polimerizacije (127). Povećanjem udjela punila i smanjivanjem čestica punila povećava se međugranična površina između punila i smole te povećava viskoznost kompozitnog materijala, što dovodi do imobilizacije smolaste matrice pri nižim vrijednostima DC-a (128). U vezi s površinskom silanizacijom čestica punila postoje naznake da nesilanizirane čestice omogućavaju postizanje viših vrijednosti DC-a, vjerojatno zato što se zbog nedostatka metakrilatnih skupina ne mogu povezati s polimernom mrežom, što odgađa gelaciju i poboljšava mobilnost smole tijekom polimerizacije (123). Svi navedeni intrinzični čimbenici određuju maksimalni DC koji određeni kompozitni materijal može postići ako se polimerizira u idealnim uvjetima. S druge strane, ekstrinzični čimbenici odnose se na uvjete u kojima se odvija svjetlosna aktivacija polimerizacije, na intenzitet i emisijski spektar polimerizacijskog uređaja te na vrijeme osvjetljavanja (126, 129, 130). Navedeni čimbenici uvjetuju učinkovitost aktivacije sustava fotoinicijatora i time posredno određuju vrijednosti DC-a. Dodatni je ekstrinzični čimbenik temperatura kompozitnog materijala, pri kojoj se odvija polimerizacija (126). Naime, predzagrijavanjem kompozita prije postavljanja u kavitet i svjetlosne aktivacije omogućuje se niža viskoznost i bolja mobilnost monomera, što rezultira višim DC-om (131).

Polimerizacijska reakcija u kompozitnim materijalima nije završena nakon ciklusa osvjetljavanja koji tipično traje između 10 i 30 sekundi, nego se nastavlja do 24 sata nakon osvjetljavanja (26). Opisana pojava naziva se naknadnom polimerizacijom i uzrokovana je visokim stupnjem imobilizacije molekula monomera tijekom svjetlosnog osvjetljavanja, što uvelike usporava reakciju polimerizacije (132). Stoga reaktanti (slobodni radikali na krajevima polimerne mreže i molekule monomera) nastavljaju polimerizaciju, ali sa znatno

sniženom brzinom reakcije (31). Postoje naznake da kod nekih komercijalnih kompozita s patentiranim modulatorima polimerizacijske reakcije naknadna polimerizacija može trajati i do jedan mjesec nakon osvjtljavanja (133).

Više vrijednosti DC-a ukazuju na to da je veći udio monomera iskorišten za formiranje polimerne mreže, stoga su povezane s boljim mehaničkim svojstvima poput tvrdoće, čvrstoće i temperature staklastog prijelaza (134-136). Uz mehanički snažniju strukturu polimerne mreže, visok DC uvjetuje i manju količinu zaostatnog monomera koji može plasticizirati polimer (135). Oba učinka poboljšavaju mehanička svojstva i otpornost kompozitnog materijala na degradaciju u vodenj sredini (137). Budući da molekule zaostatnog monomera mogu difundirati iz polimeriziranog materijala i uzrokovati toksične reakcije u zubnoj pulpi (138), više su vrijednosti DC-a povoljne jer uz manje slobodnog monomera koji je raspoloživ za toksičan učinak istovremeno označavaju i bolje umreženu strukturu polimera (139) koja usporava difuziju zaostatnog monomera i ostalih potencijalno toksičnih spojeva. Daljnja svojstva koja su povezana s višim vrijednostima DC-a uključuju sniženu apsorpciju vode, topljivost i degradaciju u vodenom mediju (137, 140). Naime, bolje polimerizirane metakrilatne mreže pokazuju manji afinitet za vodu i stoga ograničeniji učinak degradacijskih procesa koji se temelje na enzimskoj degradaciji za koju je nužna prisutnost vode u materijalu (141). Stoga manja količina apsorbirane vode neizravno utječe na bolju otpornost kompozitnog materijala na degradacijske procese (142).

Nepoželjna svojstva koja su povezana s vrijednostima DC-a polimerizacijsko su skupljanje i porast temperature tijekom svjetlosno aktivirane polimerizacije. Polimerizacijsko skupljanje linearna je funkcija DC-a jer je posljedica skraćivanja međumolekulskih veza između monomera s Van der Waalsovih udaljenosti 0,3 - 0,4 nm na udaljenost kovalentne veze od 0,15 nm (6). Stoga je matematički moguće povezati broj utrošenih C=C veza i ukupni iznos volumetrijskog skupljanja (143). Međutim, sam iznos polimerizacijskog skupljanja ne ukazuje nužno na slabiji marginalni integritet, s obzirom na to da međugranični stres između kaviteta i restauracije ovisi, uz polimerizacijsko skupljanje, i o dinamičkom razvoju modula elastičnosti tijekom polimerizacije (144). Niži modul elastičnosti može učinkovito smanjiti polimerizacijski stres unatoč visokim vrijednostima DC-a (145). Drugo nepoželjno svojstvo povezano s DC-om porast je temperature u kompozitnom materijalu tijekom polimerizacije (123). Porast temperature rezultat je energije oslobođene iz uređaja za polimerizaciju i egzotermne reakcije u smolastoj matrici (146). Doprinos egzotermne reakcije linearno je

ovisan o DC-u i može se izračunati kao produkt množine utrošenih C=C veza i energije oslobođene po molu polimeriziranih C=C veza (147).

DC je eksperimentalno moguće odrediti neizravnim i izravnim metodama. Neizravne metode temelje se na korelaciji DC-a i određenih mehaničkih svojstava. Konkretno, mikrotvrdoća po Vickersu ili Knoopu pokazuje visok stupanj korelacije s učinkovitošću polimerizacije, odnosno DC-om (148). Stoga je usporedbom vrijednosti mikrotvrdoće ostvarenih polimerizacijom kompozita u različitim uvjetima moguće dobiti informaciju o učinkovitosti polimerizacije (149). Izravne metode za određivanje učinkovitosti polimerizacije pouzdanije su jer omogućavaju izravnu kvantifikaciju preostalih, odnosno utrošenih dvostrukih C=C veza. Izravno mjerenje DC-a obavlja se spektrometrijskim tehnikama, FTIR-om (*Fourier-transform infrared*) i Ramanovom spektroskopijom (44, 150). Navedene metode temelje se na različitim fizikalnim fenomenima (prva na apsorpciji infracrvenog zračenja, a druga na neelastičnom raspršenju svjetlosti), a zajedničko im je to što ispituju molekulske vibracije i omogućavaju snimanje spektra karakterističnog za pojedini kemijski spoj (151). Iz dobivenog spektra moguće je kvantificirati pojedine funkcijske skupine, a u slučaju određivanja DC-a riječ je o C=C vezama čije se spektralne vrpce kod FTIR-a i Ramanove spektroskopije nalaze na 1638 cm^{-1} (26). Budući da je količina C=C veza izravno proporcionalna intenzitetu pripadajuće vrpce, usporedbom intenziteta prije i nakon polimerizacije moguće je izračunati udio C=C veza koje su utrošene u reakciji. Ako se spektri prikupljaju u stvarnom vremenu, spektroskopske tehnike omogućavaju i određivanje kinetičkih parametara polimerizacijske reakcije (152).

FTIR i Ramanova spektroskopija jednakovrijedne su metode za izravno određivanje DC-a, međutim svaka od njih ima određene prednosti i ograničenja. Primjerice, FTIR spektroskopija vrlo je osjetljiva na prisutnost vode, što otežava mjerenja na uzorcima koji su bili inkubirani u vlažnoj okolini (153). Klasična priprema uzoraka za FTIR spektroskopiju podrazumijeva usitnjavanje čvrstog uzorka i prešanje u pastilu od kalijeva bromida kroz koju se propušta infracrveno zračenje i bilježi spektar transmitirane svjetlosti (131). Takav način pripreme tehnički je zahtjevan, a zbog destruktivne pripreme uzorka onemogućava ponavljanja mjerenja na istom uzorku. S druge strane, primjenom prigušene totalne refleksije (ATR, engl. *attenuated total reflectance*) moguće je uz minimalnu pripremu uzoraka sukcesivno prikupljati veći broj spektara tijekom odvijanja polimerizacijske reakcije (152). Temeljna prednost Ramanove spektroskopije jednostavna je i nedestruktivna priprema uzorka te neosjetljivost na vodu u uzorku ili atmosfersku vlagu (151). Uz određene prilagodbe

eksperimentalnog postava, Ramanova spektroskopija može biti izrazito praktična za mjerenja DC-a na različitim mjestima istog uzorka, omogućavajući procjenu vrijednosti DC-a kao funkcije debljine kompozitnog sloja (26). Na taj se način može učinkovito odrediti učinkovitost polimerizacije kroz cijelu debljinu kompozitnog sloja u različitim eksperimentalnim uvjetima.

S obzirom na središnju ulogu DC-a u određivanju ostalih svojstava, u istraživanjima eksperimentalnih kompozitnih materijala bitno je odrediti maksimalan DC koji pojedine formulacije mogu postići te debljinu sloja koja može biti zadovoljavajuće polimerizirana u klinički prihvatljivom vremenu.

1.5. Svjetlosna transmitancija

S estetskog stajališta, svojstvo propuštanja svjetlosti kroz kompozitni materijal uvjetuje vizualne karakteristike poput nijanse, translucencije i opaciteta (154). S funkcijskog stajališta, propuštanje svjetlosti važno je zbog učinka na polimerizaciju kroz kompozitne slojeve različitih debljina (155). Naime, naglašeno slabljenje intenziteta svjetlosti na putu kroz kompozitni materijal dovodi do heterogenosti vrijednosti DC-a kroz cijelu debljinu kompozitnog sloja (26), a time i do različitih mehaničkih svojstava i biokompatibilnosti. Općenito, gradijent navedenih svojstava usmjeren je od površine, neposredno izložene polimerizacijskoj svjetlosti, prema dnu sloja (156). To u praksi znači da najniži dio kompozitnog sloja koji je u izravnom doticaju s pulpnim zidom ima najnepovoljnija mehanička svojstva te najvišu potencijalnu toksičnost, dok je površina ispunjena pravilno polimerizirana. Produljenjem vremena osvjetljavanja moguće je donekle kompenzirati navedenu heterogenost svojstava (44), međutim ona je u kliničkim uvjetima uvijek prisutna u određenoj mjeri.

Za izrazito smanjenje učinkovitosti polimerizacije pri većim debljinama kompozitnog sloja odgovorna je niska transmisija svjetlosti (157). Primjerice, kod konvencionalnih kompozita intenzitet svjetlosti na dnu sloja debljine 1 mm iznosi samo 1 – 6 % intenziteta upadne svjetlosti (158). Slabljenje svjetlosti eksponencijalna je funkcija debljine kompozitnog sloja (159), što znači da vrlo malo povećanje debljine iznad vrijednosti koje preporučuje proizvođač može kritično smanjiti intenzitet polimerizacijske svjetlosti i ugroziti o polimerizaciji ovisna svojstva na dnu restauracije (160). U skupini *bulk-fill* kompozitnih

materijala postavljanje dvostruko debljih slojeva nego kod konvencionalnih kompozita omogućeno je upravo povećanjem transmisije polimerizacijske svjetlosti (28).

Svjetlosna transmitancija kao fizikalna veličina definirana je omjerom intenziteta upadne i transmitirane svjetlosti te predstavlja postotak intenziteta svjetlosti koji je prošao kroz uzorak određene debljine (161). U dentalnim kompozitnim materijalima svjetlosna transmitancija uvjetovana je apsorpcijom svjetlosti molekulama fotoinicijatora i raspršenjem svjetlosti na česticama punila (162). Do raspršenja svjetlosti dolazi zbog višestrukih lomova i refleksija na velikoj međugraničnoj površini između punila i smolaste matrice (163). Intenzitet raspršenja raste s udjelom punila, a pokazuje i složenu ovisnost o veličini čestica (164). Do najvećeg raspršenja dolazi kada su čestice punila dimenzija oko polovine valne duljine svjetlosti, a veće i manje čestice imaju smanjenu sposobnost raspršenja (165). Nadalje, raspršenje svjetlosti uvjetovano je razlikom između indeksa loma anorganskog punila i smolaste matrice (166). Navedena razlika nije postojana, već se tijekom polimerizacije mijenja s obzirom na to da indeks loma smolaste matrice postupno raste pri prelasku iz monomera u polimer, dok indeks loma anorganskog punila ostaje konstantan (167). Stoga svjetlosna transmitancija tijekom polimerizacije može rasti ili padati, ovisno o početnim vrijednostima indeksa loma organske i anorganske komponente (168). Kod najvećeg broja komercijalnih kompozita svjetlosna transmitancija raste tijekom polimerizacije (152) jer se inicijalno manji indeks loma monomera tijekom formiranja polimerne mreže približava indeksu loma anorganskog punila, što dovodi do smanjenja razlike i posljedično manjeg raspršenja. Međutim, moguće je formulirati i materijale kod kojih će svjetlosna transmitancija padati tijekom polimerizacije (169). To se ostvaruje inicijalno većim indeksom loma smolaste matrice koji napredovanjem polimerizacije premašuje indeks loma anorganskog punila, na taj način povećavajući razliku indeksa loma, što dovodi do većeg raspršenja svjetlosti. Navedeno svojstvo koristi se u jednom komercijalnom *bulk-fill* kompozitnom materijalu kod kojeg inicijalno veća transmitancija osigurava prodor svjetlosti do potrebne dubine sloja, a smanjenje transmitancije tijekom polimerizacije rezultira boljim estetskim svojstvima zbog manje prozirnosti materijala (170).

U istraživanjima novih formulacija eksperimentalnih kompozitnih materijala svojstvo svjetlosne transmitancije važno je jer određuje učinkovitost svjetlosne aktivacije polimerizacije kroz slojeve različitih debljina (171). Primjerice, materijali vrlo niske transmitancije nisu prikladni za svjetlosnu aktivaciju, već moraju biti pripremljeni kao kemijski aktivirani dvokomponentni materijali (88). Estetski aspekt svjetlosne transmitancije

od manjeg je značaja jer u aktualnoj fazi istraživanja eksperimentalni materijali sadrže samo nužne strukturne i funkcijske sastojke (punila, smole i fotoinicijatore) bez dodataka obojenih spojeva kojima se prilagođavaju estetska svojstva.

1.6. Porast temperature tijekom polimerizacije

Porast temperature zbog polimerizacije kompozitnih materijala nepoželjna je pojava do koje dolazi zbog egzotermne prirode polimerizacijske reakcije i zagrijavanja polimerizacijskim uređajem (40). Količina topline oslobođena zbog egzotermne reakcije izravno je proporcionalna množini C=C veza utrošenih u polimerizaciji, stoga linearno korelira s DC-om (172). S druge strane, tijekom primjene polimerizacijskih uređaja visokog intenziteta (iznad 1000 mW/cm^2), dominantan doprinos zagrijavanju materijala dolazi od polimerizacijskog uređaja (173), dok je zagrijavanje zbog egzotermne reakcije od manje važnosti. Ova je činjenica glavni argument kritika suvremenih polimerizacijskih uređaja čiji intenziteti dosežu i nekoliko tisuća mW/cm^2 , što može rezultirati vrlo visokim porastom temperature (174). Veći intenziteti svjetlosti dovode i do veće brzine polimerizacije (175), što povećava i doprinos zagrijavanju s pomoću egzotermne reakcije. U kontekstu učinka visokih intenziteta polimerizacijske svjetlosti na zubnu pulpu, prema aktualnim preporukama, osvjtljavanje tijekom 20 sekundi intenzitetom od oko 1000 mW/cm^2 ne smatra se štetnim za vitalnost pulpe (40).

Procjena potencijalnog štetnog učinka povišene temperature tijekom polimerizacije kompozita otežana je činjenicom da ne postoji definirani temperaturni prag koji bi ukazivao na opasnost od ireverzibilnih promjena u pulpi (123). Općeprihvaćena je činjenica da porast temperature u zubnoj pulpi dovodi do različitih histoloških promjena koje su u početku reverzibilne, dok vjerojatnost ireverzibilnih oštećenja raste s povišenjem temperature (176). Međutim, točna vrijednost temperaturnog porasta koja bi se mogla koristiti kao referentna vrijednost za rezultate dobivene u *in vitro* uvjetima nije definirana. Klasična i učestalo citirana studija iz 1965. godine autora Zacha i Cohena definirala je temperaturni porast od $5,5 \text{ }^\circ\text{C}$ kao potencijalni prag za ireverzibilna oštećenja pulpe (177). Brojni autori kritizirali su navedenu studiju zbog vjerojatnog metodološkog propusta koji je doveo do podcjenjivanja stvarnog temperaturnog praga za ireverzibilna oštećenja (178). Unatoč brojnim kritikama, vrijednost od $5,5 \text{ }^\circ\text{C}$ i dalje se koristi u nekim novijim istraživanjima (179). Drugi pokušaj određivanja kritične temperature za ireverzibilna oštećenja pulpe proveden je na mladim trajnim zubima

kod kojih je bila indicirana ekstrakcija iz ortodontskih razloga (180). U navedenom istraživanju definirana je vrijednost od 11 °C kao temperaturni prag ispod kojeg nisu pronađene ireverzibilne patohistološke promjene u pulpi. Kritike ovog istraživanja usmjerene su prema činjenici da vrijednosti izmjerene na mladim i zdravim zubima ne moraju biti reprezentativne za zube koji su prethodno traumatizirani karijesom i restaurativnim zahvatima. U svakom slučaju, konkretna vrijednost temperaturnog porasta indikativna za ireverzibilna oštećenja pulpe zasad ne postoji. Ako kritični porast temperature u pulpnoj komorici i bude definiran u budućim istraživanjima, glavna poteškoća u interpretaciji rezultata dobivenih *in vitro* odnosit će se na nemogućnost prevođenja temperaturnog porasta izmjerenog u kompozitnom uzorku u intrapulpu temperaturu (181). Zbog navedenih ograničenja, istraživanja porasta temperature u eksperimentalnim materijalima u *in vitro* uvjetima svode se na usporedbu s referentnim komercijalnim materijalima (123). Takav pristup obrazlaže se kliničkim iskustvom da komercijalni materijali polimerizirani prema uputama proizvođača ne dovode do prekomjernog porasta temperature koji bi potencijalno ugrozio pulpu (182). Stoga se umjesto usporedbe apsolutnih vrijednosti temperaturnog porasta s konkretno definiranom referentnom vrijednošću pristupa mjerenju temperature tijekom polimerizacije komercijalnih i eksperimentalnih materijala u istom eksperimentalnom postavu te usporedbom dobivenih vrijednosti, uz pretpostavku da vrijednosti izmjerene kod komercijalnih materijala ne ugrožavaju zubnu pulpu i mogu se koristiti kao referentne za zadani eksperimentalni postav i uvjete polimerizacije.

Kod istraživanja novih kompozitnih materijala važno je izmjeriti porast temperature tijekom polimerizacije jer su kod nekih eksperimentalnih materijala zabilježene veće vrijednosti temperature nego kod komercijalnih kompozita, što se objašnjava visokim vrijednostima DC-a i visokom brzinom polimerizacije (123, 161).

1.7. Apsorpcija vode i solubilnost

Unatoč svojoj hidrofobnoj prirodi, kompozitni materijali tijekom izlaganja vodenom mediju u određenoj mjeri apsorbiraju vodu (183). Apsorpcija vode primarno se odvija u polimernoj mreži koja, ovisno o prisutnim funkcionalnim skupinama na pojedinim monomerima, ima različit afinitet prema molekulama vode (184). Primjerice, Bis-GMA pokazuje izraženija hidrofilna svojstva u usporedbi sa strukturalno analognom molekulom Bis-EMA koja nema hidroksilne skupine (185). Uključivanjem molekule HEMA u sastav kopolimera dobivaju se

izrazito hidrofilne smole (186), što je razlog uporabe monomera HEMA često u adhezivnim sustavima. Viši DC doprinosi boljoj umreženosti strukture polimera te manjoj količini zaostatnog monomera, što rezultira nižom apsorpcijom vode (187). Za apsorpciju vode primarno je zaslužna smolasta matrica, dok su silanizirane čestice punila hidrofobne, stoga veću apsorpciju vode pokazuju kompoziti s manjim udjelom čestica punila, primjerice niskoviskozni tekući kompoziti (188). S druge strane, bioaktivni kompozitni materijali sadržavaju određeni udio nesilaniziranih, hidrofilnih punila koja se ponašaju suprotno od prethodno spomenutih ojačavajućih punila, povećavajući apsorpciju vode (189).

Apsorpcija vode općenito se smatra nepoželjnim svojstvom jer uzrokuje dimenzijsku nestabilnost i ubranu degradaciju kompozitnog materijala (137, 190). Budući da su molekule vode potrebne za hidrolitičku degradaciju polimerne mreže i međugraničnog sloja silana na česticama punila, oba procesa ovise o prisutnosti vode u materijalu (19) i sporije se odvijaju u hidrofobnijim materijalima. Kad je riječ o bioaktivnim kompozitnim materijalima, određeni stupanj apsorpcije vode je nužan kako bi došlo do otapanja bioaktivnih punila i kako bi se ostvarila difuzija remineralizacijskih iona iz restauracije do tvrdih zubnih tkiva (191). Budući da povećanje apsorpcije vode neizbježno uzrokuje i ubranu hidrolitičku degradaciju kompozita, razinu hidrofilnosti kod remineralizirajućih materijala potrebno je svesti na najnižu razinu koja je dostatna za bioaktivni učinak. Za razliku od komercijalnih materijala kod kojih silanizirano punilo doprinosi hidrofobnosti, remineralizirajući materijali sadržavaju topljiva i nesilanizirana bioaktivna punila koja imaju obrnuti učinak (189). Stoga se raspoloživost remineralizirajućih iona prilagođava sastavom smolaste matrice i udjelom bioaktivnih punila.

Iako je osjetljivim analitičkim metodama moguće detektirati otpuštanje gotovo bilo kojeg sastojka kompozitnog materijala (smole, punila, komponenti sustava fotoinicijatora, aditiva), najveći i klinički najrelevantniji udio solubilnosti kod konvencionalnih kompozita odnosi se na otpuštanje zaostatnog monomera (138). Kod bioaktivnih kompozita vrijednostima solubilnosti dodatno je obuhvaćeno i otpuštanje remineralizacijskih iona. Stoga se solubilnost izmjerena prema metodi ISO 4049 (192) ne može smatrati pokazateljem potencijalne toksičnosti materijala, već je rezultat superpozicije otpuštanja zaostatnog monomera i remineralizirajućih iona. Za procjenu toksičnosti bioaktivnih kompozita prikladniji su izravni testovi toksičnosti, primjerice komet ili mikronukleus test (193). S druge strane, mjerenje solubilnosti prema ISO 4049 tijekom dužeg razdoblja može poslužiti kao pokazatelj vremenske dinamike otpuštanja iona. Naime, većina zaostatnog monomera napusti uzorak

kompozita unutar mjesec dana (194), zbog čega se solubilnost izmjerena nakon ovog razdoblja može pripisati isključivo otpuštanju iona. Stoga dugoročno mjerenje solubilnosti može poslužiti kao ekonomična alternativa složenijim metodama za kvantifikaciju otpuštanja iona (195) u ranim istraživanjima novih bioaktivnih formulacija.

1.8. Dubina polimerizacije prema ISO 4049

Klasična i često kritizirana, ali i dalje učestalo primjenjivana metoda za određivanje dubine polimerizacije je test struganja prema protokolu definiranom standardom ISO 4049 (196). Jednostavan postupak uključuje svjetlosnu polimerizaciju kompozitnog materijala u cilindričnom kalupu, odstranjivanje mekanog nepolimeriziranog materijala plastičnom špatulom i mjerenje visine polimeriziranog kompozitnog cilindra. Polovica izmjerene visine definirana je kao dubina polimerizacije. Kritike metode odnose se na njezinu arbitrarnost i nepostojanje fizikalnog temelja za opisani postupak (196, 197). Međutim, i ostale sofisticiranije metode određivanja učinkovitosti polimerizacije na pojedinim debljinama kompozitnog sloja u sličnoj su mjeri proizvoljne (198): postavljanje granice za mikrotvrdoću od 80 % ili DC između 80 ili 90 % kao kriterija zadovoljavajuće polimerizacije (199) nema čvršće fizikalne temelje nego metoda prema ISO 4049 (200). Stoga je u razvoju novih eksperimentalnih materijala korisno izmjeriti učinkovitost polimerizacije s pomoću različitih metoda i kritički evaluirati dobivene vrijednosti.

2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Cilj ovog rada bio je istraživanje učinka različitih udjela BG 45S5 na neka od temeljnih svojstava eksperimentalnih bioaktivnih kompozita. Pripremljena je serija od pet eksperimentalnih kompozitnih materijala s ukupnim težinskim udjelom punila od 70 % i promjenjivim težinskim udjelom BG-a 0 – 40 %. Istražena su sljedeća svojstva: DC, svjetlosna transmitancija, porast temperature tijekom polimerizacije, apsorpcija vode i solubilnost te dubina polimerizacije prema ISO 4049.

Specifični ciljevi rada bili su istraživanje sljedećih svojstava kod eksperimentalnih bioaktivnih kompozita:

- precipitacija HA na površini kompozitnog materijala kao pokazatelj bioaktivnosti
- utjecaj udjela BG-a u kompozitnom materijalu na maksimalni ostvarivi DC
- ovisnost DC-a o vremenu polimerizacije i debljini kompozitnog sloja
- dubina polimerizacije određena izravnom spektrometrijskom tehnikom i klasičnom metodom prema ISO 4049
- porast temperature tijekom polimerizacije u stvarnom vremenu
- relativni doprinosi egzotermne reakcije i zagrijavanja polimerizacijskim uređajem na porast temperature tijekom polimerizacije
- temperaturni porast tijekom polimerizacije kao pokazatelj kinetike polimerizacijske reakcije
- promjene svjetlosne transmitancije tijekom polimerizacije
- vrijednosti svjetlosne transmitancije i njihov odnos s učinkovitošću polimerizacije na slojevima različitih debljina
- apsorpcija vode i solubilnost prema modificiranoj metodi ISO 4049
- dinamika apsorpcije vode i solubilnosti tijekom razdoblja od 287 dana kao neizravni pokazatelji dinamike otpuštanja iona.

Postavljene su sljedeće radne hipoteze:

- imerzijom eksperimentalnih kompozitnih materijala u fosfatima puferiranoj fiziološkoj otopini (PBS, od engl. *phosphate-buffered saline*), na njihovoj se površini precipitira HA
- količina precipitiranog HA ovisi o težinskom udjelu BG punila u kompozitnom materijalu
- DC eksperimentalnih kompozita u rasponu je vrijednosti uobičajenih kod konvencionalnih kompozita
- pri vremenu osvijetljavanja 20 – 40 s moguće je postići zadovoljavajuću polimerizaciju eksperimentalnih kompozita do debljine sloja od 2 mm
- udio BG punila u eksperimentalnim kompozitima utječe na maksimalni ostvarivi DC, a pad DC-a pri slojevima veće debljine
- svjetlosna transmitancija eksperimentalnih kompozita u rasponu je vrijednosti komercijalnih kompozita i omogućava svjetlosno aktiviranu polimerizaciju do debljine sloja od 2 mm
- svjetlosna transmitancija ovisi o udjelu BG punila u eksperimentalnim kompozitima
- eksperimentalni kompoziti ispunjavaju uvjete dubine polimerizacije definirane prema ISO 4049
- dubina polimerizacije određena prema ISO 4049 slična je vrijednostima izmjerenim prema kriteriju 80 % maksimalnog DC-a
- porast temperature tijekom polimerizacije u rasponu je vrijednosti komercijalnih kompozita, stoga ne predstavlja opasnost za zubnu pulpu
- udio BG punila u eksperimentalnim kompozitima utječe na porast temperature tijekom polimerizacije
- eksperimentalni kompoziti s BG punilima pokazuju veću apsorpciju vode i solubilnost od konvencionalnih
- vrijednosti apsorpcije vode i solubilnosti ovisne su o udjelu BG punila
- eksperimentalni kompoziti s BG punilima pokazuju dugoročni gubitak mase tijekom imerzije u vodi zbog otpuštanja remineralizirajućih iona

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Priprema eksperimentalnih kompozitnih materijala

Pripremljeno je pet eksperimentalnih materijala s ukupnim težinskim udjelom punila od 70 % i varijabilnim udjelom BG 45S5 0 – 40 %. Kratice i sastav pojedinih materijala prikazani su u Tablici 1. Monomeri, inicijator i koinicijator polimerizacije pomiješani su u svjetlosno nepropusnoj boci s pomoću magnetske miješalice tijekom 48 sati. Dobivena fotoaktivna smolasta matrica (Slika 1) pomiješana je s česticama punila (Slika 2-4) dvostruko asimetričnom centrifugalnom miješalicom (Speed Mixer TM DAC 150 FVZ, Hauschild & Co. KG, Hamm, Njemačka, Slika 5-6) uz 2700 okretaja po minuti. Miješanje je provedeno u pet jednominutnih intervala odvojenih pauzama od jedne minute, kako bi se spriječilo pregrijavanje materijala (123). Zatim su kompozitne paste pohranjene u vakuumu tijekom 12 sati kako bi se uklonile inkluzije zraka. Uz opisane eksperimentalne kompozitne materijale, kao kontrolni materijal korišten je komercijalni kompozit Tetric EvoCeram. Pri mjerenjima porasta temperature tijekom polimerizacije te apsorpcije vode i solubilnosti kao dodatni kontrolni materijali uključeni su i komercijalni kompoziti Tetric EvoFlow i Gradia Direct Posterior. Podaci o komercijalnim kompozitima prikazani su u Tablici 2.

Tablica 1. Sastav eksperimentalnih kompozitnih materijala

Materijal		Težinski udio punila (%)		Ukupni težinski udio punila (%)	Smola		Volumni udio punila (%)
		BG	Ojačavajuća punila (Ba : Si = 2 : 1)		Težinski udio (%)	Sastav	
Kontrolni materijal bez bioaktivnog punila	BG-0	0	70	70	30	60 % Bis-GMA 40 % TEGDMA	48
	BG-5	5	65	70	30		48
Bioaktivni kompoziti s različitim udjelima BG 45 S5	BG-10	10	60	70	30	fotoinicijator: 0.2 % CQ	48
	BG-20	20	50	70	30	0.8 % 4E	51
	BG-40	40	30	70	30		52

Bioaktivno staklo 45S5 (BG): SiO₂ 45 %, Na₂O 25 %, CaO 25 %, P₂O₅ 5 %, veličina čestica (d50/d99 (μm)): 4.0/13.0, silanizacija: 0 %, ime proizvoda / proizvođač: G018-144 / Schott, Njemačka.

Punila od barijeva stakla (Ba): SiO₂ 55.0 %, BaO 25.0 %, B₂O₃ 10.0 %, Al₂O₃ 10.0 %, veličina čestica (d50/d99 (μm)): 1.0/4.0, silanizacija 3.2 wt %, ime proizvoda / proizvođač: GM27884 / Schott, Njemačka.

Punila od silike (Si): SiO₂ ≥ 99.8 %, primarna veličina čestica: 12 nm, silanizacija 4 - 6 wt %, ime proizvoda / proizvođač: Aerosil DT / Evonik Degussa, Njemačka.

Bis-GMA: bisfenol A glicidil metakrilat, Esstech, PA, SAD; TEGDMA: trietilen glikol dimetakrilat, Esstech; CQ: kamforkinon, Aldrich, WI, SAD; 4E: etil-4- (dimetilamino) benzoat, Aldrich.

Tablica 2. Sastav komercijalnih kompozita

Materijal (kratica)	Proizvođač	Nijansa / LOT / EXP	Sastav punila	Udio punila (wt % / vol %)	Smolasta matrica
Tetric EvoFlow (TEF)	Ivoclar Vivadent, Schaan, Lihtenštajn	A2 / V36426 /2020-09- 02	barijevo staklo, iterbijev trifluorid, silika, prepolimeri	65 / 40	Bis-GMA, UDMA, decandioldimetakrilat
Tetric EvoCeram (TEC)	Ivoclar Vivadent, Schaan, Lihtenštajn	A2 / V40834 / 2020-10-13	barijevo staklo, iterbijev trifluorid, silika, prepolimeri	76 / 54	Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA
Gradia Direct Posterior (Gradia)	GC Europe, Leuven, Belgija	A3 / 1503202 / 2018-03	barijevo staklo, silika, prepolimeri	77 / 65	UDMA, dimetakrilati



Slika 1. Tvorničko pakiranje metakrilatnih smola i fotoinicijatora



Slika 2. Tvorničko pakiranje punila od bioaktivnog stakla 45S5



Slika 3. Tvornička pakiranja ojačavajućih punila od silaniziranog barijeva stakla



Slika 4. Izgled čestica punila



Slika 5. Dvostruko asimetrična miješalica Speed Mixer



Slika 6. Pripremljena kompozitna pasta u rotoru miješalice. Intenzivna žuta boja potječe od kamforkinona

3.2. Precipitacija hidroksiapatita

Uzorci eksperimentalnih kompozitnih materijala ($n = 5$) pripremljeni su u teflonskim kalupima $d = 8$ mm, $h = 2$ mm, pokriveni s objiju strana folijom od polietilen-tereftalata (PET) i osvijetljeni tijekom 20 sekundi s objiju strana polimerizacijskim uređajem Bluephase G2 (Ivoclar-Vivadent, Schaan, Lihtenštajn; raspon valnih duljina 380 – 515 nm, intenzitet 1200 mW/cm^2). Po završetku polimerizacije uzorci su pojedinačno uronjeni u 50 ml PBS-a i inkubirani 7 dana u mraku na 37 ± 1 °C. Nakon isteka navedenog razdoblja uzorci su izvađeni iz medija i osušeni u eksikatoru tijekom 5 dana. FTIR i Ramanovi spektri prikupljeni su s pomoću spektrometra Spectrum GX (PerkinElmer, Waltham, SAD). FTIR spektri snimljeni su u 100 skenova primjenom dodatka za difuznu refleksiju (tzv. DRIFT, od engl. *diffuse reflectance infrared Fourier-transform*) pri rezoluciji od 4 cm^{-1} . Ramanovi spektri snimljeni su u 50 skenova uz ekscitaciju laserom NdYAG na 1064 nm valne duljine, uz snagu lasera od 600 mW i rezoluciju od 4 cm^{-1} . Za rastersku elektronsku mikroskopiju (SEM) i elementarnu

analizu (EDS, od engl. *energy-dispersive X-ray spectroscopy*) korišten je uređaj FE-SEM JSM 7000 (JEOL, Peabody, MA, SAD, Slika 7). SEM snimke učinjene su na prethodno neobrađenim, nativnim preparatima.



Slika 7. Rasterski elektronski mikroskop FE-SEM JSM 7000 (JEOL)

3.3. Stupanj konverzije

Cilindrični uzorci ($d = 3 \text{ mm}$, $h = 5 \text{ mm}$) pripremljeni su aplikacijom kompozitne paste u kalupe od nehrđajućeg čelika, pokrivanjem otvora kalupa PET filmom i osvjetljavanjem polimerizacijskim uređajem Bluephase G2 tijekom 20 ili 40 s. Tijekom osvjetljavanja polimerizacijski je uređaj bio postavljen neposredno uz otvor kalupa, a snop svjetlosti usmjeren paralelno s osi kompozitnog cilindra. Neposredno nakon polimerizacije prikupljeni su Ramanovi spektri s gornje površine uzorka (neposredno izložene izvoru svjetlosti) koja je označena kao dubina od 0 mm. Nakon mjerenja uzorci su preneseni u inkubator (Cultura, Ivoclar-Vivadent, Schaan, Lihtenštajn), u kojem su bili pohranjeni u mraku tijekom 24 sata na temperaturi od $37 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Zatim su Ramanovi spektri prikupljeni s različitih mjesta uzduž osi

cilindričnog uzorka, koja su predstavljala debljine kompozitnog sloja od 0, 1, 2, 3 i 4 mm (26). Za svaku eksperimentalnu skupinu (kombinaciju *materijal* x *vrijeme osvjetljavanja*) pripremljeno je 5 uzoraka ($n = 5$), a na svakom uzorku provedeno je 6 ponavljanih mjerenja (jedno neposredno nakon polimerizacije na površini uzorka i preostalih pet na različitim dubinama nakon 24 sata).

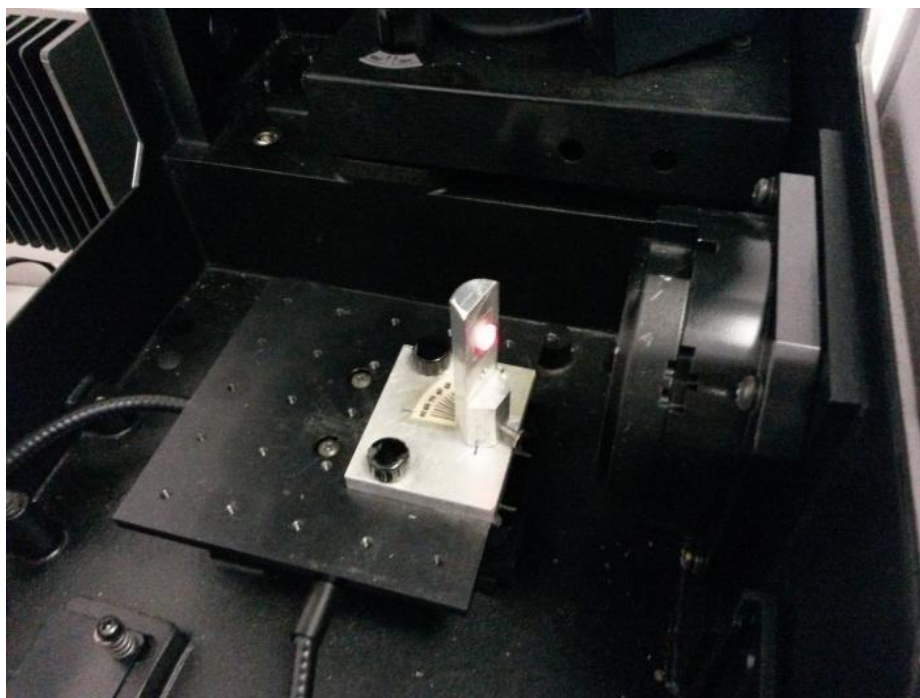
Ramanovi spektri prikupljeni su s pomoću FT-Raman spektrometra Spectrum GX (PerkinElmer, Waltham, SAD, Slika 8). Površina uzorka promjera 0,5 mm bila je ekscitirana laserom NdYAG valne duljine od 1064 nm i snage od 800 mW (Slika 9). Za svaki spektar prikupljeno je 50 skenova uz rezoluciju od 4 cm^{-1} . Ramanovi spektri obrađeni su u Kinetics dodatku za Matlab (Mathworks, Natick, Massachusetts, SAD).

DC je izračunat usporedbom relativne promjene intenziteta spektralnih vrpca na 1638 cm^{-1} (alifatski C=C) i 1608 cm^{-1} (interni standard, aromatski C=C) prije i nakon polimerizacije prema sljedećem izrazu (150):

$$DC = 1 - \frac{(1638\text{ cm}^{-1} / 1608\text{ cm}^{-1})_{\text{intenzitet nakon polimerizacije}}}{(1638\text{ cm}^{-1} / 1608\text{ cm}^{-1})_{\text{intenzitet prije polimerizacije}}}$$



Slika 8. FT-Raman spektrometar Spectrum GX (PerkinElmer)

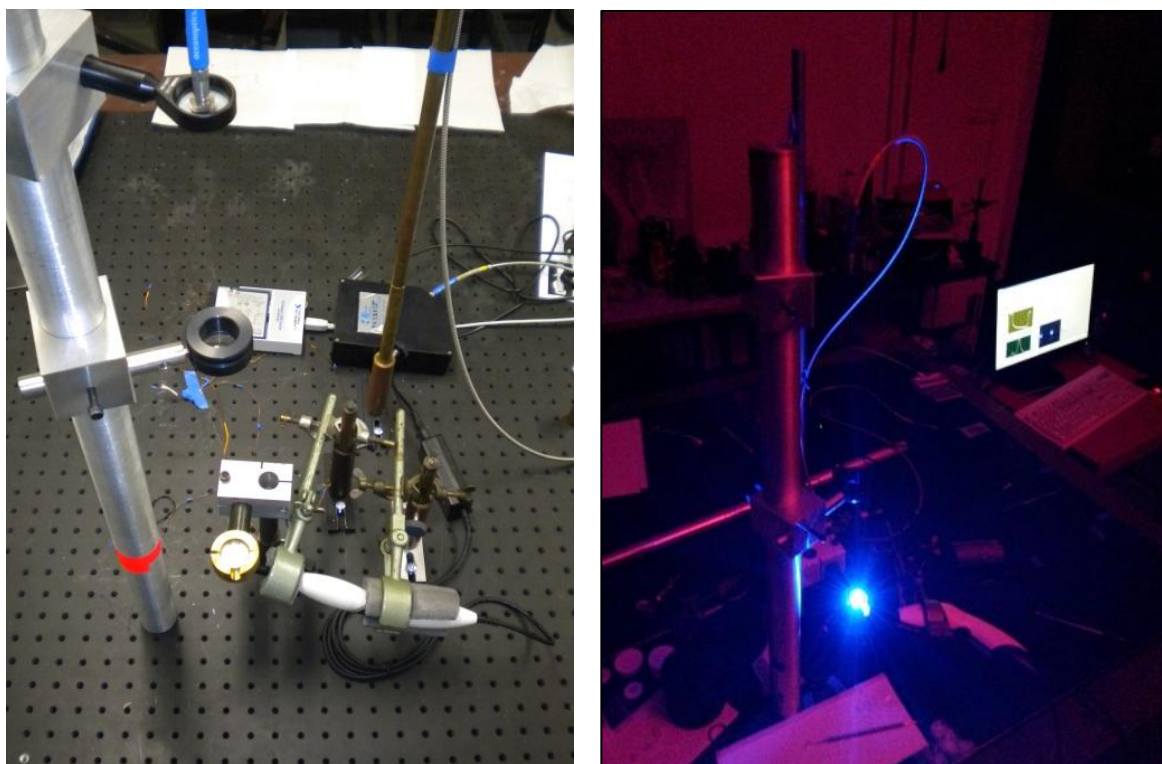


Slika 9. Uzorak kompozita učvršćen na univerzalni nosač u odjeljku za Ramanovu spektrometriju. Crvena boja potječe od laserske zrake koja se koristi za određivanje mjesta na uzorku na kojem će se provesti mjerenje.

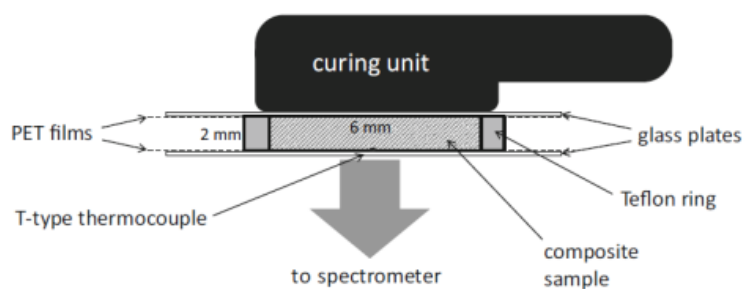
3.4. Svjetlosna transmitancija

Nepolimerizirani kompozitni materijal postavljen je u teflonske prstenove ($d = 6$ mm, $h = 2$ mm), pokriven s objiju strana PET filmom i pritisnut između staklenih pločica debljine 1 mm. Eksperimentalni postav za mjerenje transmitancije prikazan je na Slici 10, a shematski prikaz odjeljka za kompozitni materijal na Slici 11. Polimerizacijski uređaj Bluephase G2 postavljen je neposredno ispod staklene pločice, a spektri vidljive svjetlosti prikupljeni su sa suprotne strane uzorka tijekom svjetlosne aktivacije polimerizacije (30 s) s pomoću UV-VIS spektrometra HR4000 (Ocean Optics, Dunedin, FL, SAD). Omjer intenziteta svjetlosti koja je prošla kroz uzorak kompozitnog materijala i intenziteta izmjerenog kroz prazni odjeljak za uzorak predstavlja transmitanciju svjetlosti (%). Vrijednosti svjetlosne transmitancije bilježene su u stvarnom vremenu brzinom prikupljanja podataka od 20 s^{-1} . Uzorci su dodatno osvijetljeni 120 s nakon završetka polimerizacije polimerizacijskim uređajem Bluephase G2 tijekom 30 sekundi, kako bi se zabilježila transmitancija polimeriziranog materijala. Mjerenja su provedena na sobnoj temperaturi (21 ± 1 °C). Za svaki kompozitni materijal pripremljeno je 5 uzoraka ($n = 5$).

Uz mjerenja svjetlosne transmitancije kroz uzorke kompozitnih materijala, emisijski spektar i intenzitet polimerizacijskog uređaja Bluephase G2 dodatno je okarakteriziran mjerenjima s pomoću integrirajuće sfere (IS, Gigahertz Optik GmbH, Puchheim, Njemačka).



Slika 10. Eksperimentalni postav za mjerenje transmisije svjetlosti kroz kompozitni materijal (lijevo). Eksperiment se izvodi u mraku kako pozadinsko osvjetljenje ne bi ometalo mjerenje (desno).



Slika 11. Shematski prikaz odjeljka za kompozitni uzorak, preuzeto iz (161)

3.5. Dubina polimerizacije prema ISO 4049

Test struganja za određivanje dubine polimerizacije proveden je u skladu s protokolom ISO 4049 (192). Cilindrični uzorci kompozita pokriveni PET filmom polimerizirani su u dvodijelnom metalnom kalupu ($d = 4 \text{ mm}$, $h = 14 \text{ mm}$). Neposredno nakon završetka osvjetljavanja kalup je otvoren i mekani dio kompozita uklonjen je plastičnom špatulom. Duljina preostalog cilindra izmjerena je pomičnom mjerkom s preciznošću od $0,1 \text{ mm}$ i podijeljena s faktorom 2 kako bi se dobila vrijednost dubine polimerizacije prema ISO 4049.

3.6. Porast temperature tijekom polimerizacije

Uzorci za mjerenja porasta temperature pripremljeni su u istom eksperimentalnom postavu koji je prethodno opisan za određivanje svjetlosne transmitancije. Teflonski prstenovi ($d = 6 \text{ mm}$, $h = 2 \text{ mm}$) ispunjeni su kompozitnim materijalom, pokriveni s obje strane PET filmom i pritisnuti između staklenih pločica debljine 1 mm . Odjeljak za uzorak bio je učvršćen u mjedenom držaču, pri čemu je kompozitni uzorak sa svih strana bio obuhvaćen teflonskim kalupom, PET filmovima i staklenim pločicama kako bi se spriječila prekomjerna disipacija topline do koje bi moglo doći izravnim kontaktom s metalom. Uzorci su osvjetljeni s jedne strane polimerizacijskim uređajem Bluephase G2 tijekom 30 s , a na suprotnoj strani uzorka između PET filma i staklene pločice bio je smješten T-tip termočlanka koji je u stvarnom vremenu (20 s^{-1}) bilježio promjene temperature tijekom polimerizacije. Nakon osvjetljavanja uzorci su ostavljeni kako bi se ohladili do sobne temperature ($21 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Zatim je polimerizacijski uređaj ponovno aktiviran tijekom 30 s kako bi se dobila informacija o temperaturnom porastu tijekom osvjetljavanja već polimeriziranog materijala.

3.7. Apsorpcija vode i solubilnost

Apsorpcija vode i solubilnost izmjerene su modificiranom gravimetrijskom metodom prema protokolu ISO 4049 (192). Uzorci ($n = 6$, $d = 6 \text{ mm}$, $h = 2 \text{ mm}$) pripremljeni su u teflonskim prstenovima obostrano prekrivenim PET folijom i polimerizirani polimerizacijskim uređajem Bluephase G2 u trajanju od 30 sekundi sa svake strane. Uzorci su osušeni u eksikatoru na $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$, sve dok varijacije mase između dvaju mjerenja nisu postale manje od $0,1 \text{ mg}$. Po ispunjenju ovog uvjeta, s pomoću analitičke vage preciznosti od $0,1 \text{ mg}$ (XS204, Mettler Toledo, Greifensee, Švicarska, Slika 12) zabilježena je početna masa (m_1), a uzorci su pojedinačno smješteni u 8 ml demineralizirane vode u inkubatoru (Cultura, Ivoclar-Vivadent, Schaan, Lihtenštajn) na $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Porast mase uzoraka zbog apsorpcije vode praćen je u

razmacima od 1, 3, 7, 14, 28 i 60 dana, a zatim svakih 14 dana do isteka perioda od 196 dana te svakih 30 dana do kraja razdoblja od 287 dana. Pri svakoj od definiranih vremenskih točaka uzorci su izvađeni iz demineralizirane vode, osušeni na zraku tijekom 15 sekundi i obrisani celuloznim ubrusima do uklanjanja vidljivih tragova vode na površini. Zatim je izmjerena masa uzorka m_t , gdje t predstavlja vremenski interval od početka imerzije. Demineralizirana voda mijenjana je svakih 14 dana kako bi se izbjegao učinak promjena pH-vrijednosti. Nakon postizanja ravnoteže (nakon što je razlika mase između dvaju uzastopnih mjerenja postala manja od 0,1 mg) ili po isteku zadanog vremena (kod materijala kod kojih nije postignuta ravnoteža) zabilježena je masa m_2 . Potom su uzorci bili pohranjeni u eksikatoru na 37 ± 1 °C i svaka 24 sata praćeno je smanjenje mase zbog gubitka vode. Po postizanju ravnoteže nakon desorpcije zabilježena je masa m_3 . Promjene mase u pojedinoj vremenskoj točki izračunate su prema izrazu $\Delta m = (m_2(t) - m_1)/m_1$. Apsorpcija vode i solubilnost materijala izračunata je prema formulama: $W_{sp} = (m_2 - m_3)/V$ i $W_{sl} = (m_1 - m_3)/V$, gdje je: W_{sp} – apsorpcija vode po jedinici volumena materijala, W_{sl} – solubilnost po jedinici volumena materijala, V – volumen uzorka.



Slika 12. Analitička vaga s preciznošću mjerenja od 0,1 mg (XS204, Mettler Toledo)

3.8. Statistička analiza

Stupanj konverzije, transmitancija svjetlosti i dubina polimerizacije

S obzirom na to da prikupljeni podaci nisu značajno odstupali od normalne distribucije (Shapiro-Wilkov test), kao mjera centralne tendencije odabrana je aritmetička sredina, a kao mjera varijabilnosti standardna devijacija. Vrijednosti DC-a analizirane su mješovitim modelom ANOVA-e, pri čemu je debljina sloja predstavljala čimbenik unutar subjekata, a materijal i vrijeme osvjetljavanja bili su čimbenici između subjekata. Relativni učinak pojedinog čimbenika na ishodnu varijablu DC-a opisan je statistikom parcijalnih eta-kvadrata. Usporedbe parova vrijednosti DC-a između vremena osvjetljavanja od 20 i 40 s pri fiksnim razinama ostalih čimbenika provedene su t-testom za neovisna opažanja uz pretpostavku homogenih varijanci. Srednje vrijednosti porasta DC-a zbog naknadne polimerizacije nakon 24 sata uspoređene su između materijala s pomoću jednosmjerne ANOVA-e za svako od vremena osvjetljavanja. Vrijednosti svjetlosne transmitancije uspoređene su mješovitim modelom ANOVA-e, pri čemu su tri vremenske točke u kojima je zabilježena transmitancija predstavljale čimbenik unutar subjekata, a materijal je bio čimbenik između subjekata. Za vrijednosti dubine polimerizacije izmjerene prema metodi ISO 4049, provedena je dvosmjerna ANOVA s čimbenicima *materijal* i *vrijeme osvjetljavanja*. Usporedbe parova za vrijednosti dubine polimerizacije između dvaju vremena osvjetljavanja za svaki pojedini materijal provedene su t-testom za neovisna opažanja uz pretpostavku homogenih varijanci. U svim modelima ANOVA-e višestruke su usporedbe provedene uz prilagodbu Tukey kod neovisnih opažanja, odnosno uz prilagodbu Bonferroni kod ponavljanih opažanja.

Porast temperature tijekom polimerizacije

Normalnost distribucije podataka testirana je Shapiro-Wilkovim testom, a homogenost varijanci Leveneovim testom. Jednosmjerna ANOVA s *post hoc* prilagodbom Tukey primijenjena je za usporedbu srednjih vrijednosti porasta temperature između svih materijala te za vremena vršne vrijednosti temperature kod eksperimentalnih materijala. Analiza korelacije prema Pearsonu provedena je kako bi se ispitala povezanost težinskog udjela BG punila s temperaturnim porastom zbog egzotermne reakcije i vremenom vršne vrijednosti temperature.

Apsorpcija vode i solubilnost

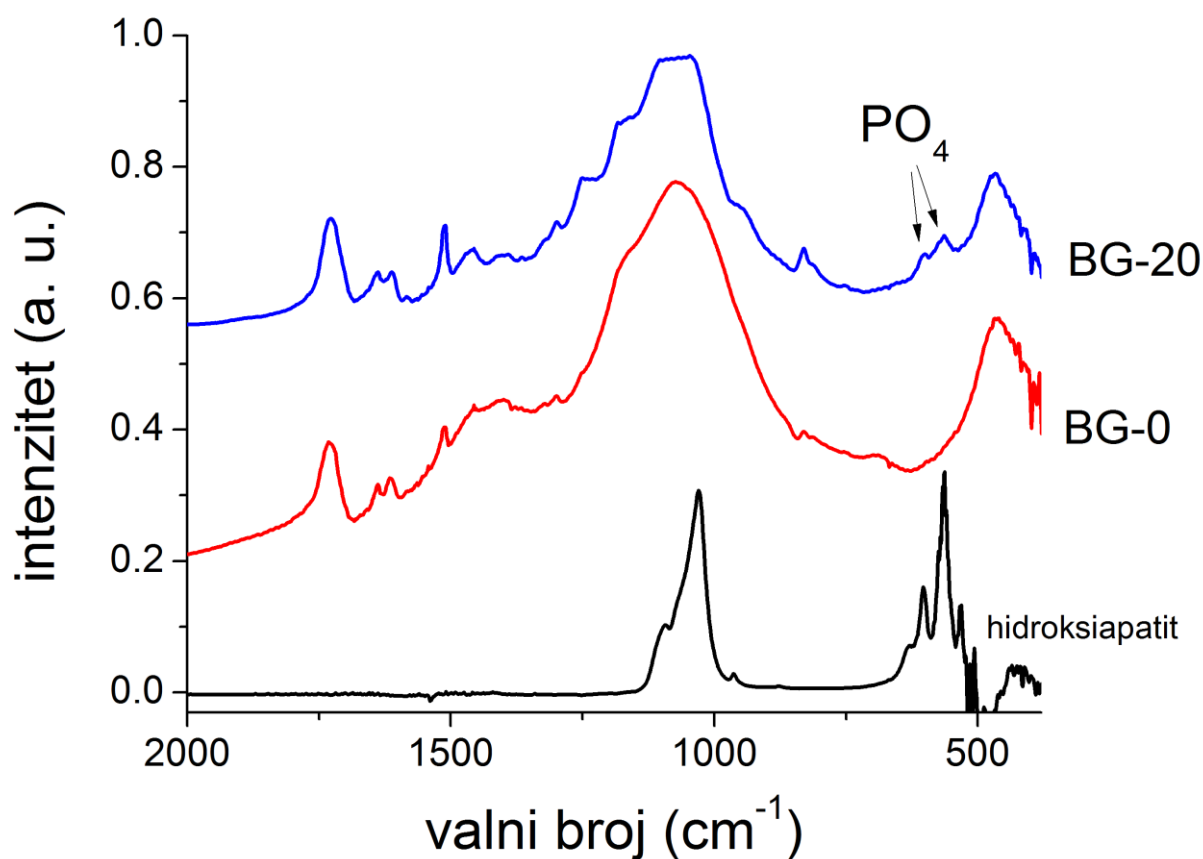
Za svaki pojedini materijal srednje vrijednosti porasta mase između različitih vremenskih točaka uspoređene su ANOVA-om za ponavljana mjerenja uz *post hoc* prilagodbu Bonferroni za višestruke usporedbe. Leveneov test pokazao je heterogene varijance, stoga su srednje vrijednosti apsorpcije vode i solubilnosti između materijala uspoređene Welch ANOVA-om i *post hoc* prilagodbom Games-Howell za višestruke usporedbe.

U svim testovima globalna razina značajnosti postavljena je na 0,05. Sve statističke analize provedene su u softverskom paketu SPSS 20 (IBM, Armonk, NY, SAD).

4. REZULTATI

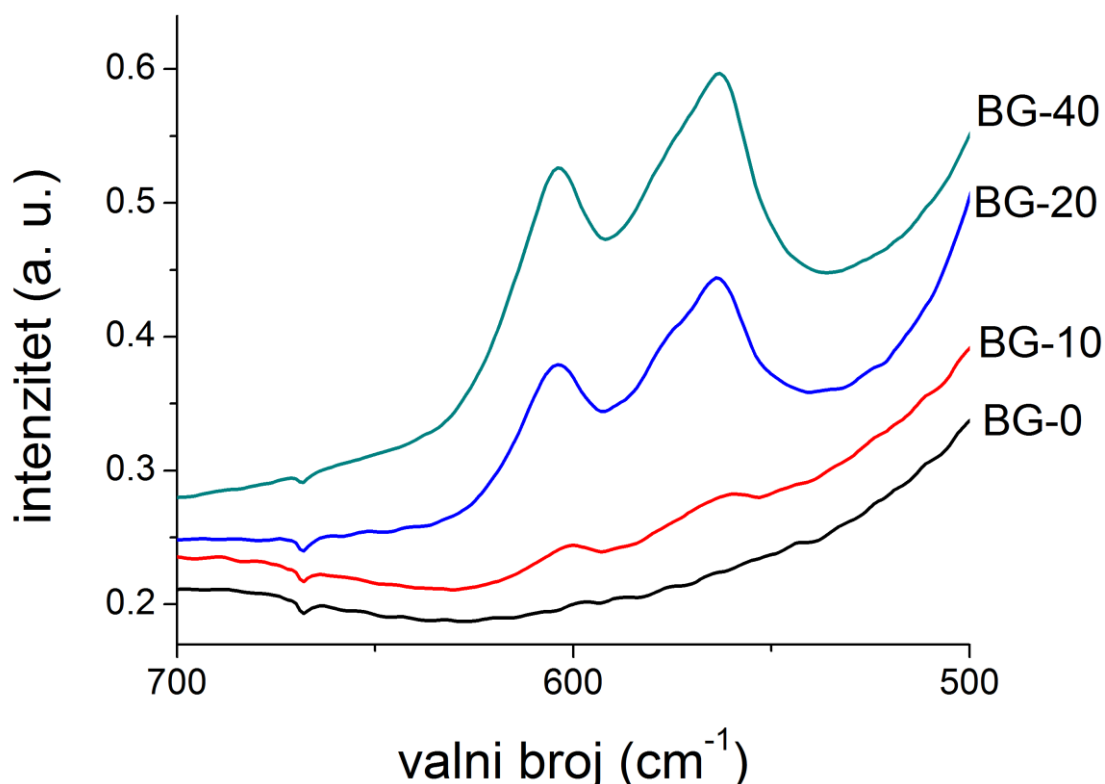
4.1. Precipitacija hidroksiapatita

Sloj HA na površini kompozitnog uzorka identificiran je s pomoću DRIFT spektroskopije na temelju prisutnosti dviju vibracijskih vrpce na 564 i 604 cm^{-1} koje odgovaraju vibracijama fosfatne skupine (Slika 13). Referentni spektar HA analitičke čistoće na toj poziciji pokazuje dvije uske i dobro definirane vrpce, a spektar površine kompozita BG-20 pokazuje vrpce znatno nižeg intenziteta u skladu s manjom koncentracijom HA. Materijal BG-0 predstavlja negativnu kontrolu i u njegovu se spektru ne nalaze spomenute vrpce.



Slika 13. DRIFT spektri čistog HA, negativne kontrole (BG-0) i kompozitnog materijala BG-20

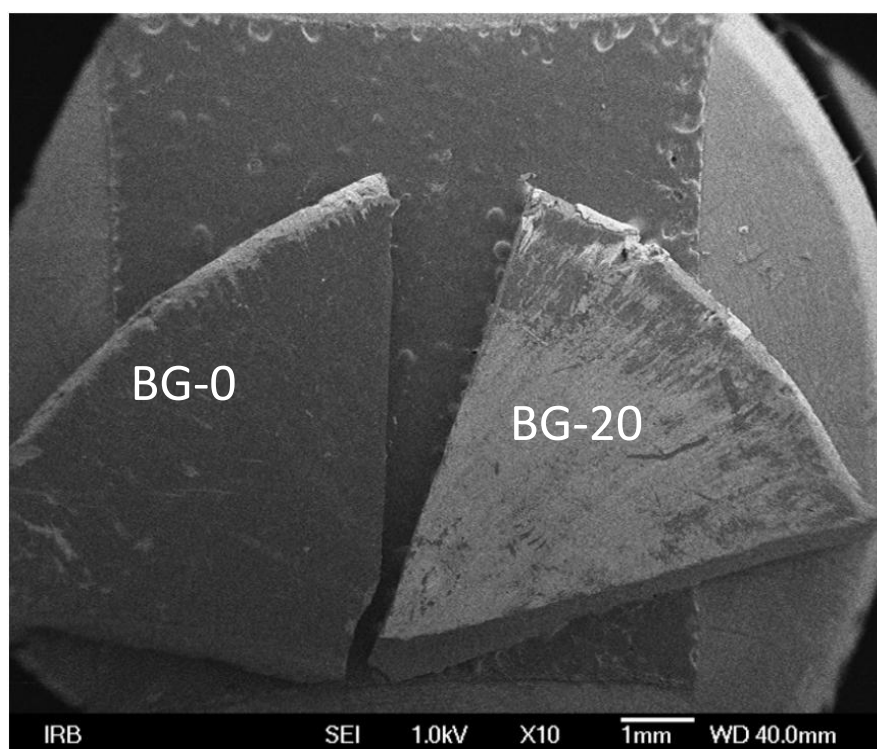
Slika 14 prikazuje povećani segment spektra koji je služio za detekciju HA kako bi se bolje uočile razlike u intenzitetima među pojedinim materijalima. Porast intenziteta vrpce na 564 i 604 cm^{-1} s većim udjelom BG-a u eksperimentalnom materijalu ukazuje na veću količinu precipitiranog HA. Kod negativne kontrole BG-0 ne nalaze se tragovi HA. Također, kod materijala BG-5 (nije prikazano na slici) nisu detektirane navedene vrpce, što ukazuje na nepostojanje ili vrlo malu i stoga nemjerljivu količinu HA na površini tog materijala.



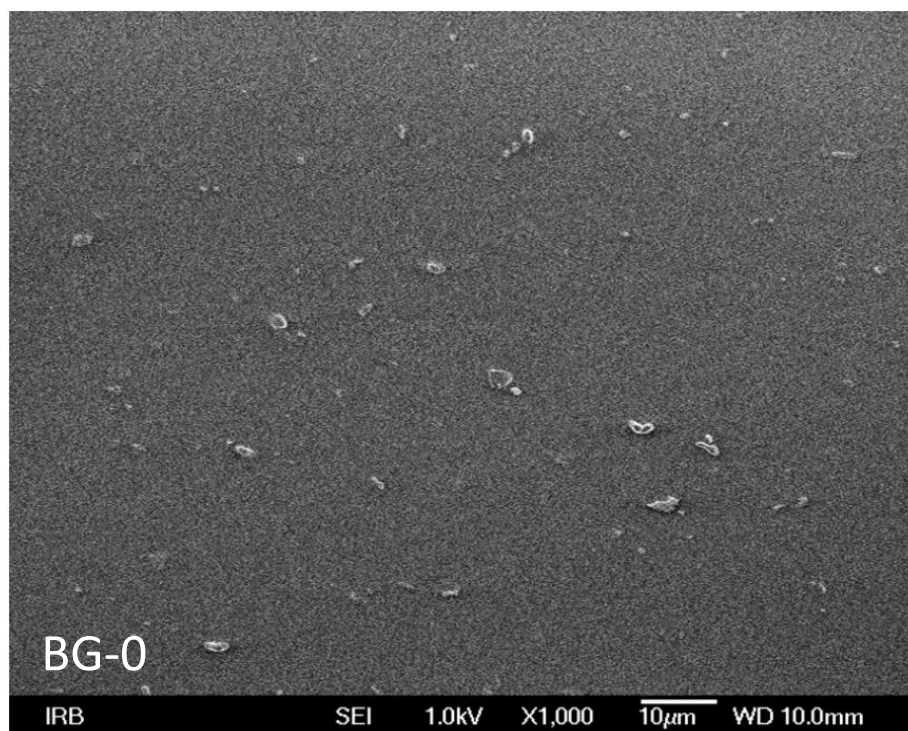
Slika 14. Različiti intenziteti vibracijskih vrpce na 564 i 604 cm^{-1} kod eksperimentalnih materijala s težinskim udjelom BG-a 10 – 40 % ukazuju na različite količine HA precipitiranog nakon imerzije u PBS-u.

Za razliku od DRIFT spektara, Ramanovi spektri nisu se pokazali dostatno osjetljivim za detekciju HA na površini eksperimentalnih kompozita. Glavna vibracijska vrpca na 960 cm^{-1} , koja se u Ramanovu spektru koristi za identifikaciju HA, bila je prekrivena drugim vrpcaama znatno većeg intenziteta, što je onemogućilo njezino razlučivanje. Stoga Ramanovi spektri prikupljeni s površine eksperimentalnih kompozita nakon sedmodnevne imerzije u PBS-u nisu dalje obrađivani.

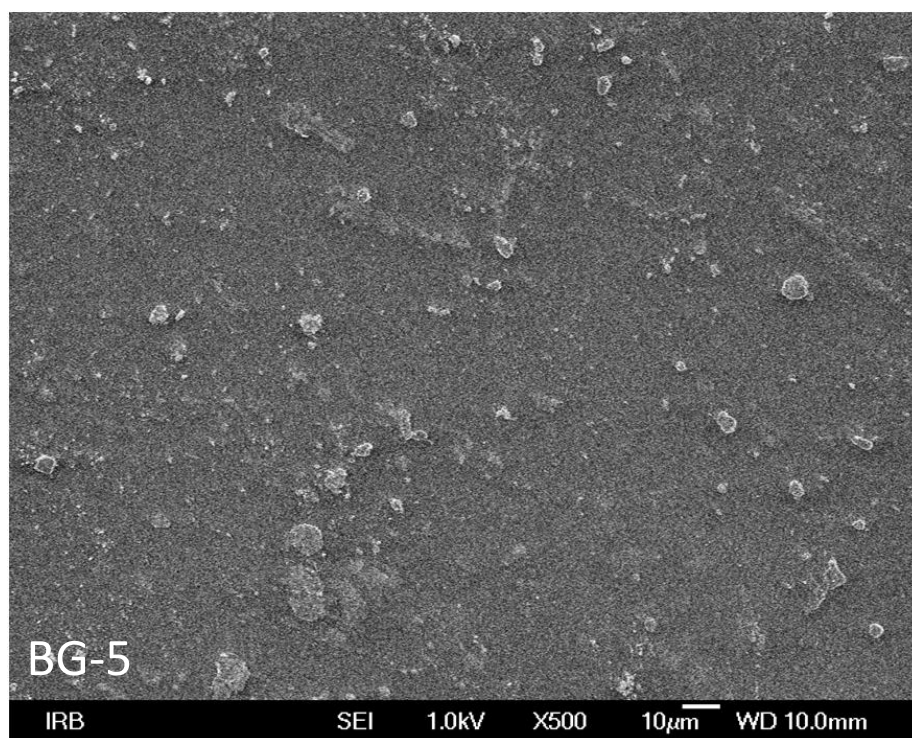
SEM snimke omogućile su vizualizaciju kristala HA na površini kompozitnih uzoraka. Slika 15 prikazuje SEM snimku površine materijala BG-0 i BG-20 pri malom povećanju (10 x). Veći dio površine materijala BG-20 prekriven je precipitatom od HA, koji nije uočljiv na površini kontrolnog materijala BG-0. Pri većim povećanjima dobiven je bolji uvid u gustoću i strukturu HA precipitata (Slike 16-20). Slika 16 prikazuje uzorak materijala BG-0 na kojem je vidljiva glatka površina smolaste matrice i mjestimično čestice punila. Na Slici 17 vidljiva je slična struktura materijala BG-5, uz rijetke male kristale HA. Na Slici 18 (BG-10) jasno se razaznaju kristali HA između kojih postoji velik dio nepokrivene površine. Površina materijala BG-20 (Slika 19) pokazuje znatno veću gustoću HA precipitata koja pokriva gotovo cijelu površinu uzorka u vidnom polju. Slična struktura HA sloja vidljiva je i na uzorku materijala BG-40 (Slika 20).



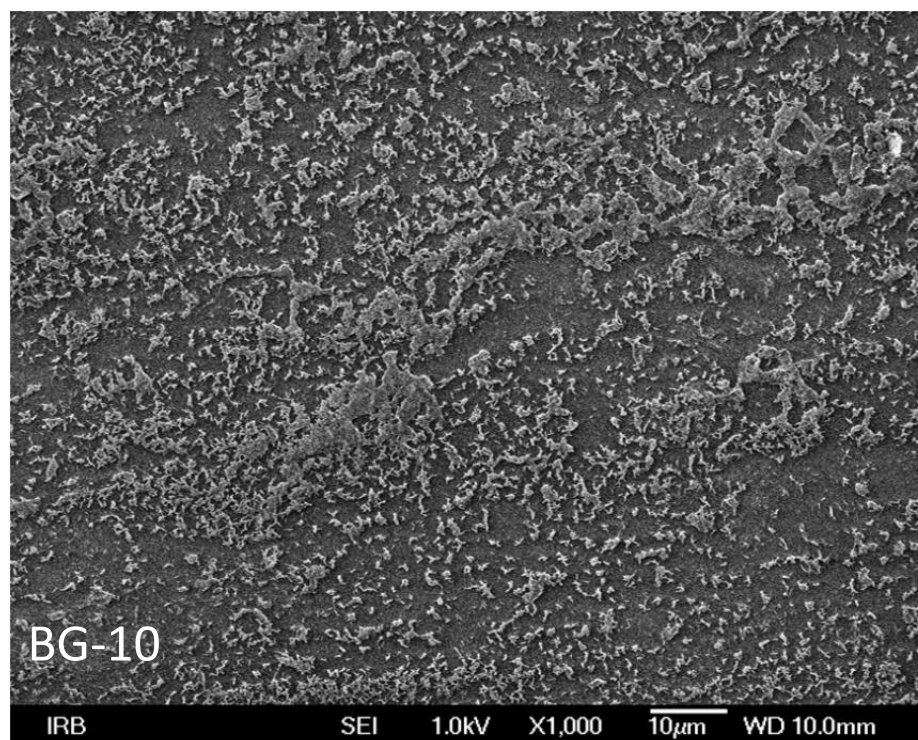
Slika 15. SEM snimka površine materijala BG-0 i BG-20 pri povećanju od 10 x



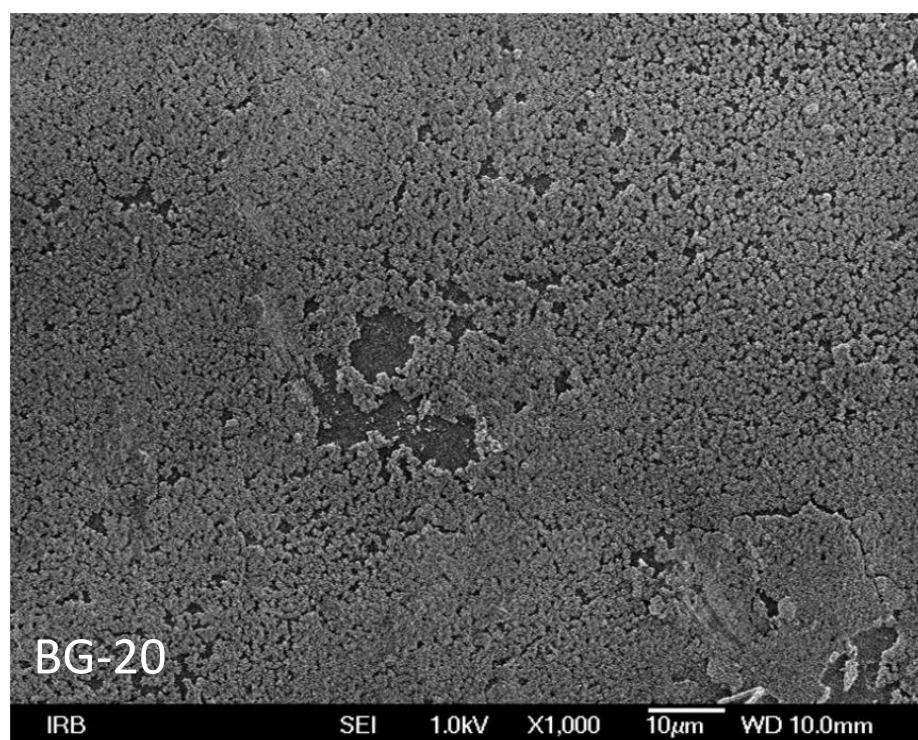
Slika 16. SEM snimka površine materijala BG-0 pri povećanju od 1000 x



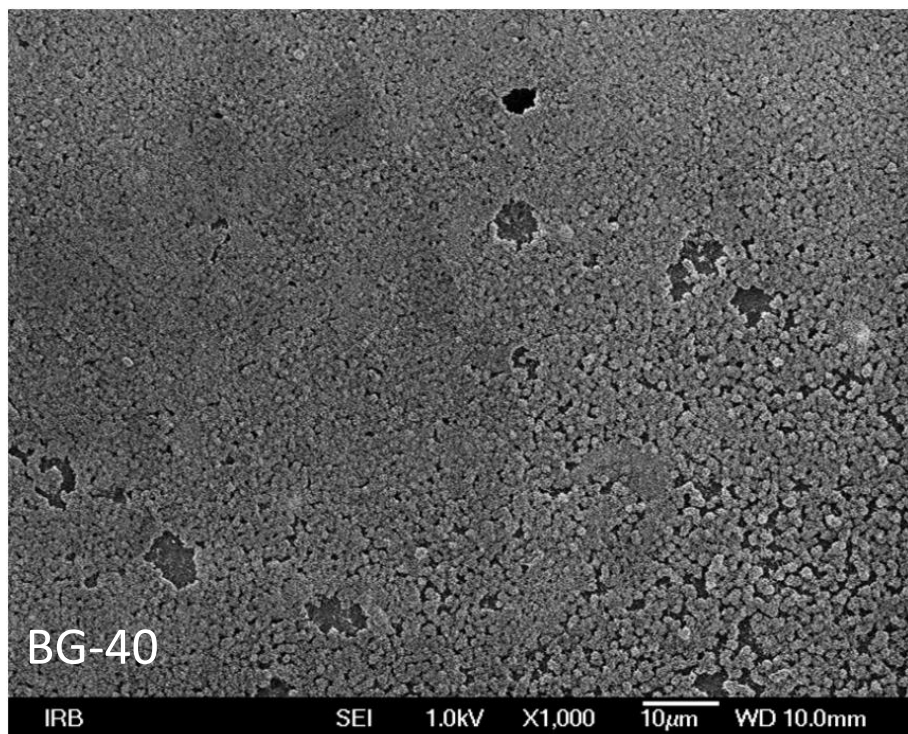
Slika 17. SEM snimka površine materijala BG-5 pri povećanju od 500 x



Slika 18. SEM snimka površine materijala BG-10 pri povećanju od 1000 x

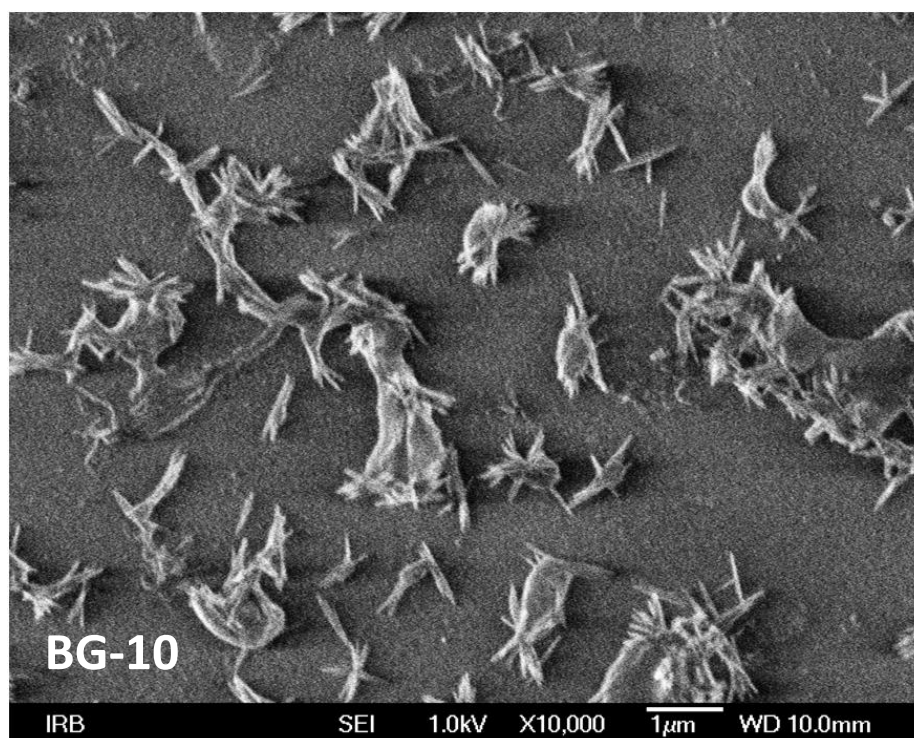


Slika 19. SEM snimka površine materijala BG-20 pri povećanju od 1000 x

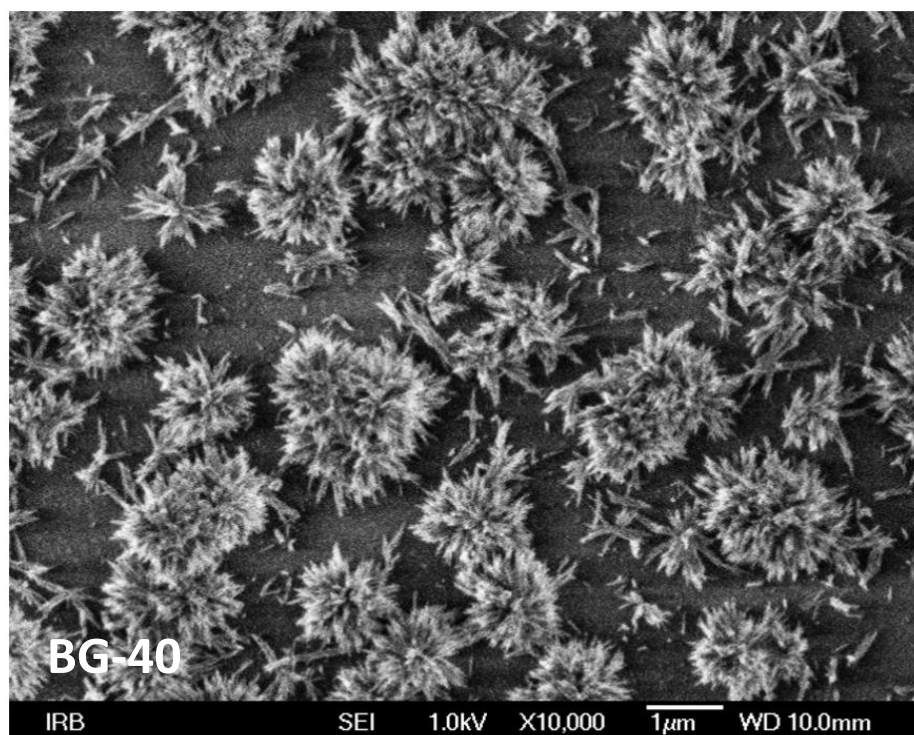


Slika 20. SEM snimka površine materijala BG-40 pri povećanju od 1000 x

Na Slikama 21 i 22 pri visokom povećanju (10000 x) prikazana je mikrostruktura kristala HA formiranih na površini kompozita. Kod materijala BG-10 vidljivi su pojedinačni igličasti kristali koji se međusobno rijetko spajaju i prekrivaju otprilike 30 % površine uzorka (Slika 21). Kad je riječ o materijalu BG-40, pojedinačni su kristali spojeni u globularne strukture koje prekrivaju oko 80 % površine uzorka (Slika 22).

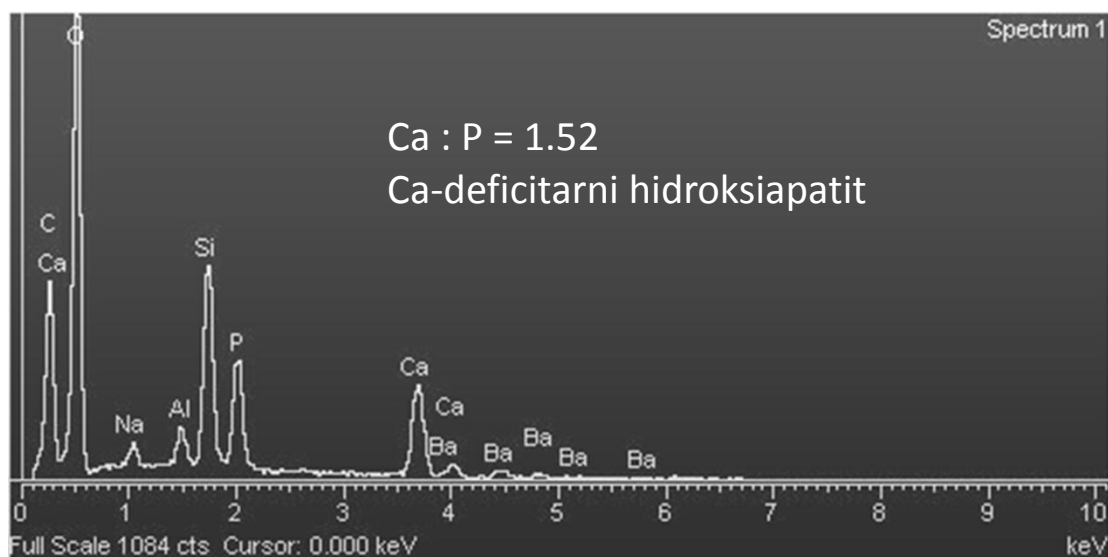


Slika 21. SEM snimka površine materijala BG-10 pri povećanju od 10000 x



Slika 22. SEM snimka površine materijala BG-40 pri povećanju od 10000 x

EDS spektar precipitata HA najveće gustoće (materijal BG-40) prikazan je na Slici 23. Omjer kalcija i fosfora od 1,52 ukazuje na to da je precipitat po kemijskom sastavu kalcij-deficitarni HA.

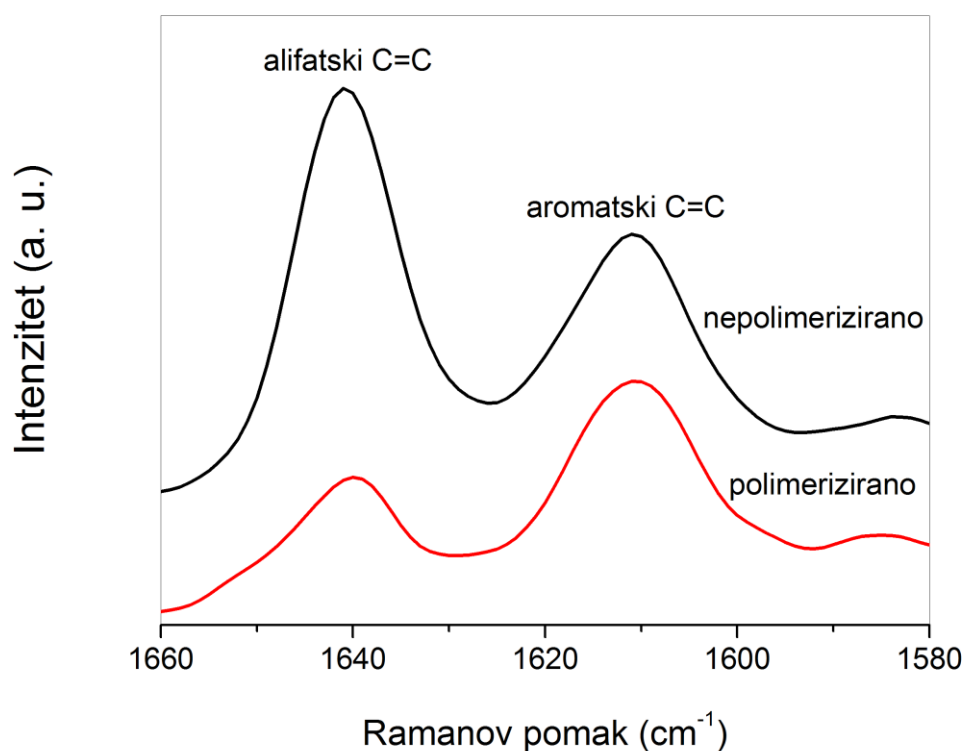


Slika 23. EDS elementarna analiza sloja HA precipitiranog na površini eksperimentalnog materijala BG-40

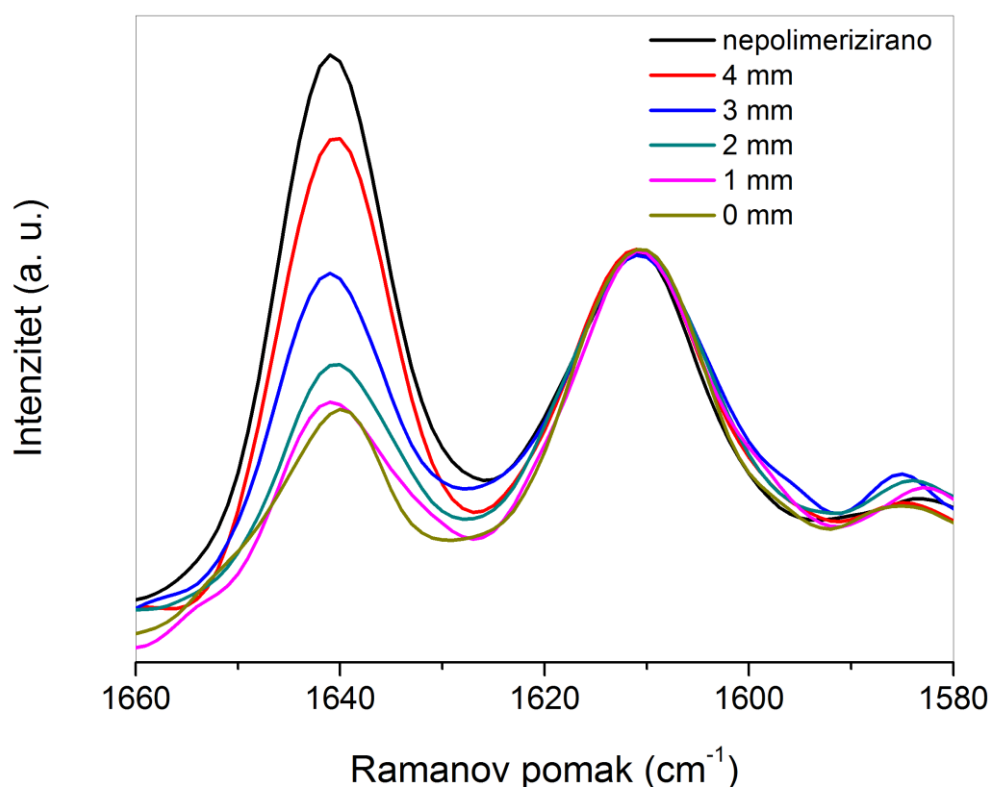
4.2. Stupanj konverzije

Ramanovi spektri i vibracijske vrpce na 1638 i 1608 cm^{-1} koje se koriste za određivanje DC-a prikazane su na Slici 24. Spektri su normirani na vrpce pri 1608 cm^{-1} koja predstavlja interni standard. Niži intenzitet vrpce pri 1638 cm^{-1} u spektru polimeriziranog materijala odražava utrošak alifatskih C=C veza i omogućava izračunavanje vrijednosti DC-a.

Slika 25 predstavlja pregled Ramanovih spektara nepolimeriziranog materijala i spektara prikupljenih s različitih dubina kompozitnog cilindra koje predstavljaju debljine sloja $0 - 4$ mm. Svi spektri normirani su na interni standard pri 1608 cm^{-1} , stoga je moguća izravna vizualna usporedba intenziteta vrpce na 1638 cm^{-1} . Uočljiv je postupni porast intenziteta navedene vrpce s povećanim dubinama, što je odraz veće količine neutrošenih C=C veza, odnosno nižeg DC-a.

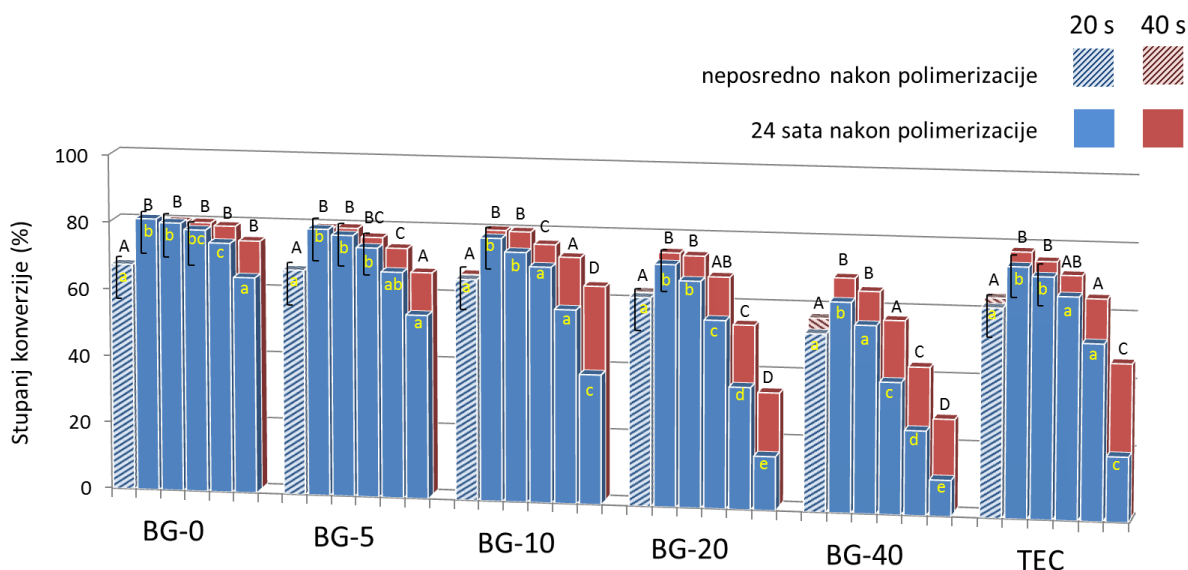


Slika 24. Ramanovi spektri nepolimeriziranog i polimeriziranog eksperimentalnog materijala BG-20



Slika 25. Ramanovi spektri nepolimeriziranog i polimeriziranog eksperimentalnog materijala BG-20 na dubinama 0 – 4 mm

Srednje vrijednosti DC-a i rezultati statističke analize prikazani su na Slici 26. DC je bio značajno povišen kod dužeg vremena osvjetljavanja (40 s), osobito na slojevima većih debljina. Povećanje debljine kompozitnog sloja i težinskog udjela BG-a dovelo je do smanjenja DC-a. Relativni doprinosi čimbenika *materijal*, *debljina* i *vrijeme osvjetljavanja* prikazani su u Tablicama 3 i 4. Kompozitni materijali s višim udjelima BG-a općenito su pokazivali veće vrijednosti parcijalnih eta-kvadrata za čimbenike *debljina* i *vrijeme osvjetljavanja* (Tablica 4).



		20 s						40 s					
	Debljina	BG-0	BG-5	BG-10	TEC	BG-20	BG-40	BG-0	BG-5	BG-10	TEC	BG-20	BG-40
Neposredno	0 mm	67.4 (0.6)	67.2 (1.7)	65.9 (1.1)	62.1 (2.0)	62.1 (2.1)	52.9 (1.6)	64.7 (1.6)	65.3 (1.0)	66.1 (1.5)	63.8 (1.5)	62.4 (1.9)	56.2 (1.6)
	0 mm	81.2 (0.3)	79.6 (0.8)	78.3 (1.6)	74.4 (1.8)	72.1 (2.1)	62.5 (2.3)	78.9 (1.1)	78.8 (0.9)	79.5 (1.7)	77.5 (2.6)	74.3 (1.0)	68.3 (1.3)
24 h	1 mm	80.2 (1.2)	77.9 (0.8)	74.4 (1.0)	71.7 (1.5)	67.4 (1.9)	55.8 (2.6)	79.5 (0.8)	78.9 (0.6)	79.3 (1.0)	74.9 (4.0)	73.6 (3.4)	64.6 (1.7)
	2 mm	78.3 (0.8)	74.4 (2.6)	70.2 (3.1)	66.0 (0.8)	56.0 (0.7)	39.2 (3.2)	79.3 (0.9)	76.3 (0.9)	75.7 (1.5)	71.0 (2.4)	67.6 (2.6)	56.2 (2.8)
	3 mm	74.6 (3.0)	67.4 (5.0)	57.8 (4.2)	52.4 (1.6)	36.4 (3.5)	25.1 (5.1)	78.5 (1.0)	73.3 (1.9)	72.1 (1.9)	64.4 (2.2)	53.5 (2.7)	42.6 (4.3)
	4 mm	64.5 (4.7)	54.8 (7.9)	38.7 (6.8)	19.4 (3.9)	16.0 (3.6)	10.7 (2.2)	74.2 (3.2)	66.3 (2.9)	63.7 (2.4)	45.5 (8.6)	33.6 (5.1)	27.4 (3.8)

Slika 26. DC (%) kao funkcija debljine kompozitnog sloja i vremena osvjetljavanja. Za svaki materijal lijevi stupac predstavlja DC izmjeren na površini uzorka (0 mm) neposredno nakon svjetlosne aktivacije polymerizacije, dok preostali stupci slijeva udesno predstavljaju DC izmjeren 24 sata nakon osvjetljavanja na debljinama od 0, 1, 2, 3 i 4 mm. Ista slova iznad stupaca označavaju statistički slične skupine unutar pojedinog materijala – mala slova za vrijeme osvjetljavanja od 20 s, a velika slova za 40 s. Uglate zagrade koje spajaju plave i crvene stupce označavaju statističku sličnost vrijednosti DC-a između dvaju vremena osvjetljavanja. Uglate zagrade u tablici označavaju statistički homogene skupine za pojedinu debljinu i vrijeme osvjetljavanja. Standardne devijacije prikazane su u zagradama.

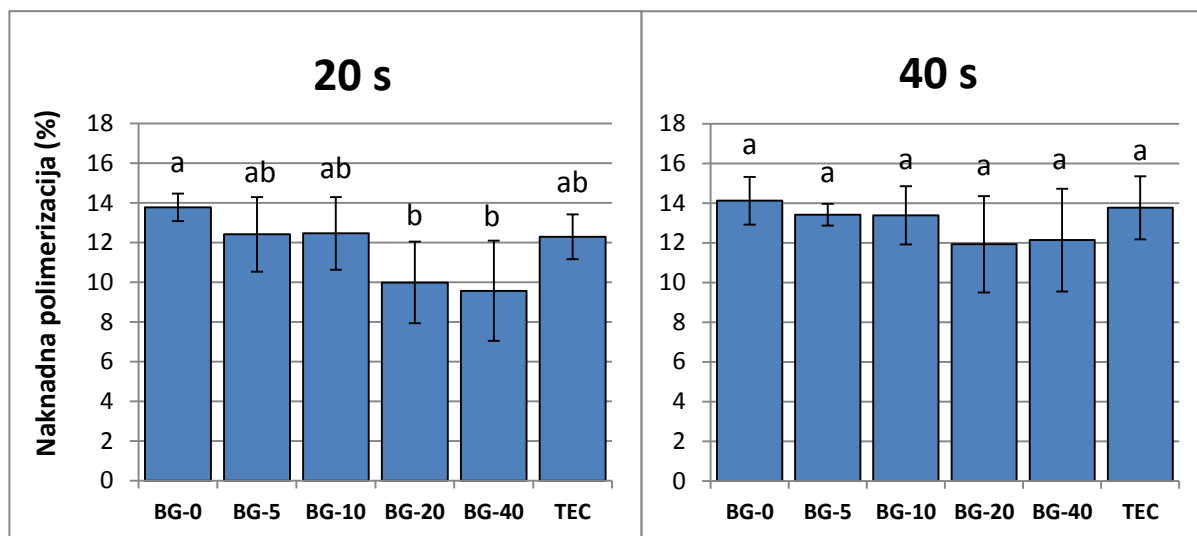
Tablica 3. Utjecaj čimbenika *materijal*, *debljina* i *vrijeme osvjetljavanja* te njihovih interakcija na DC eksperimentalnih kompozita

Čimbenik	p	parcijalni η^2
materijal	<0.001	0.970
debljina	<0.001	0.973
vrijeme osvjetljavanja	<0.001	0.872
materijal * debljina	<0.001	0.889
materijal * vrijeme osvjetljavanja	<0.001	0.509
debljina * vrijeme osvjetljavanja	<0.001	0.686

Tablica 4. Vrijednosti parcijalnih eta-kvadrata (p vrijednosti u zagradama) koje predstavljaju mjeru za relativne snage učinka čimbenika *debljina* i *vrijeme osvjetljavanja* na DC kod pojedinih kompozita

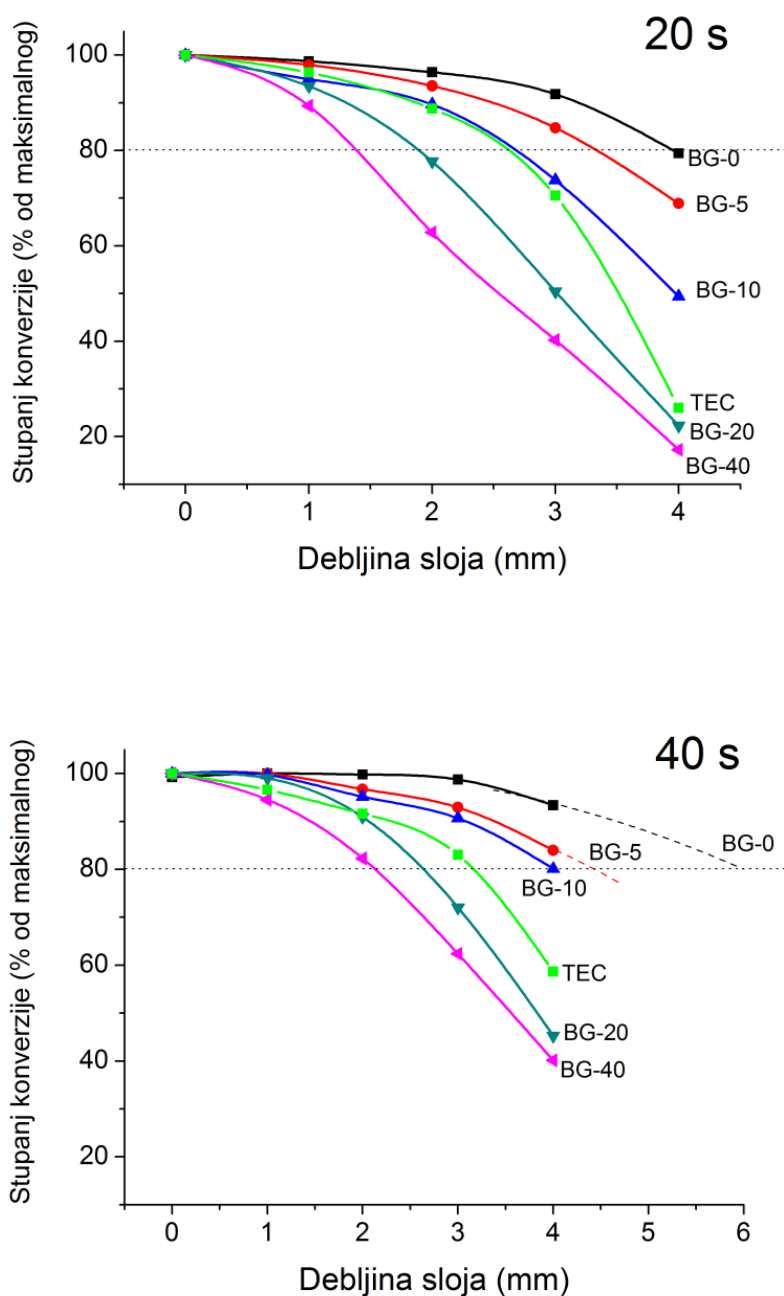
Čimbenik	Materijal					
	BG-0	BG-5	BG-10	BG-20	BG-40	TEC
debljina	0.852	0.915	0.969	0.989	0.990	0.976
	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)
vrijeme osvjetljavanja	0.563	0.462	0.860	0.902	0.868	0.851
	(0.012)	(0.031)	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)
debljina * vrijeme osvjetljavanja	0.623	0.524	0.851	0.710	0.668	0.756
	(<0.001)	(0.018)	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)	(<0.001)

Na Slici 27 prikazan je iznos naknadne polimerizacije nakon 24 sata, izračunat kao razlika DC-a izmjenjenog na površini (0 mm) neposredno nakon osvjetljavanja i nakon 24 sata. Porast DC-a zbog naknadne polimerizacije bio je statistički značajan kod svih kompozita i iznosio je između 9,6 i 14,1 %.



Slika 27. Naknadna polimerizacija izračunata kao razlika DC-a izmjenjenog na površini (0 mm) neposredno nakon i 24 sata nakon osvjetljavanja. Ista slova označavaju statistički homogene skupine za pojedino vrijeme osvjetljavanja. Stupci pogrešaka označavaju ± 1 s.d.

Postupni pad DC-a s povećanjem debljine kompozitnog sloja izražen kao postotak maksimalnog ostvarivog DC-a prikazan je na Slici 28. Sjecišta dobivenih krivulja s isprekidanom linijom pri 80 % maksimalnog DC-a predstavljaju dubinu polimerizacije. Tako definirana dubina polimerizacije iznosila je 1,4 - 4,0 mm za osvjetljavanje od 20 s, odnosno 2,1 – 5,9 mm za osvjetljavanje od 40 s. Uočljiva je općenita tendencija smanjenja dubine polimerizacije s povećanjem udjela BG punila u eksperimentalnim kompozitima.

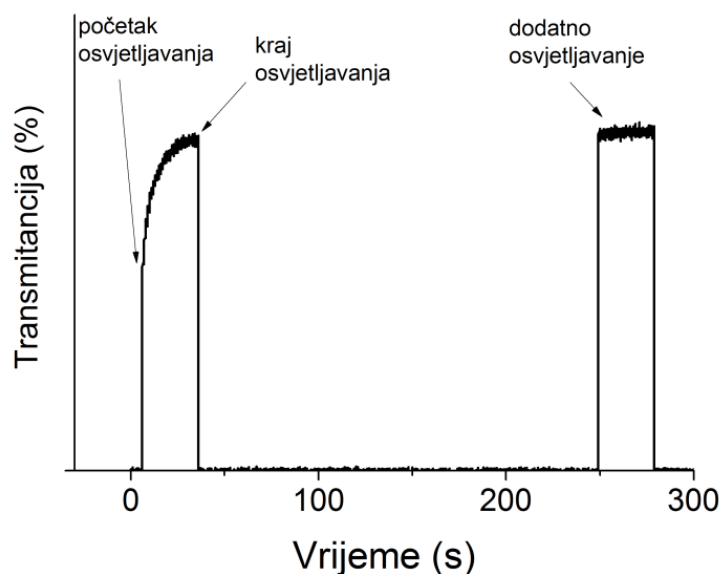


Slika 28. Krivulje smanjenja DC-a s porastom debljine kompozitnog sloja. Dubina na kojoj DC iznosi 80 % od maksimalne vrijednosti smatra se dubinom polimerizacije. Tijekom osvjetljavanja od 40 s vrijednosti dubine polimerizacije materijala BG-0 i BG-5 bile su više od raspona u kojem su izvršena mjerenja (4 mm), stoga su odgovarajuće krivulje prilagođene na polinom drugog reda kako bi se ekstrapolacijom aproksimirala dubina polimerizacije (isprekidane linije).

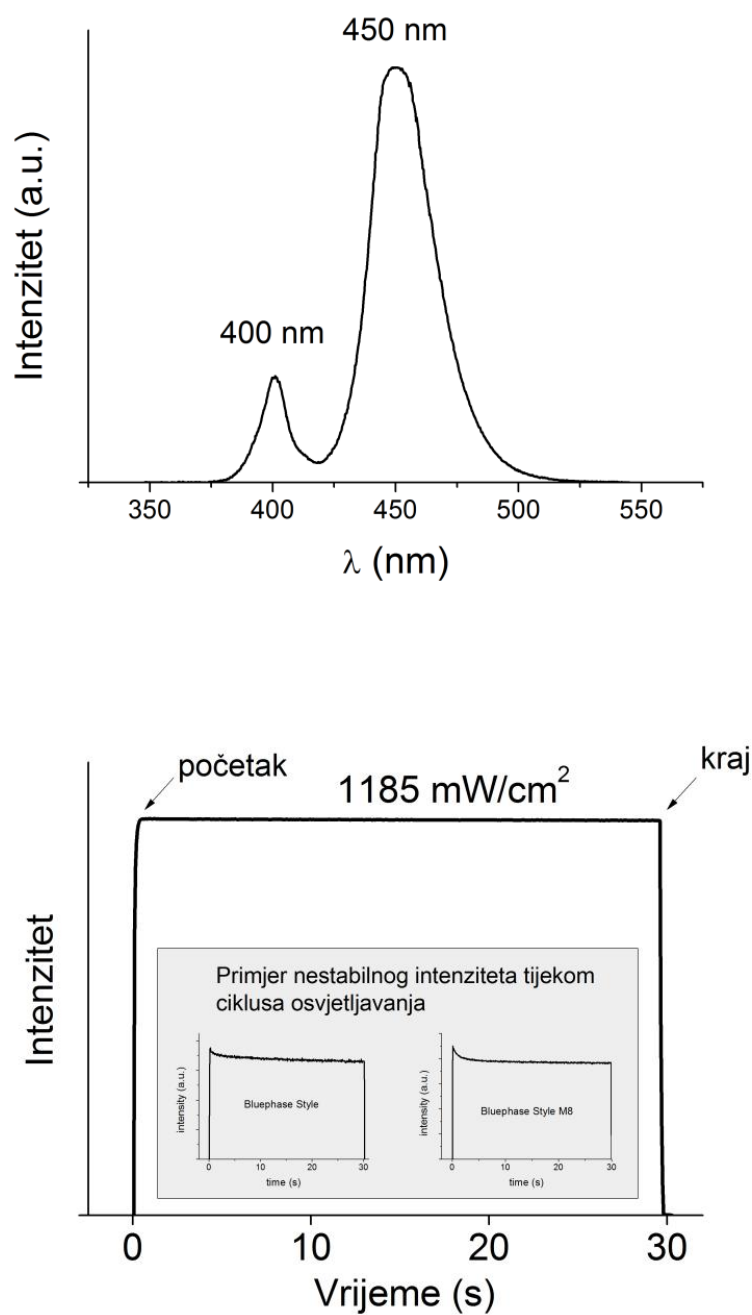
4.3. Transmitancija svjetlosti

Slika 29 predstavlja reprezentativnu krivulju porasta svjetlosne transmisije kompozitnog materijala tijekom i nakon svjetlosno aktivirane polimerizacije. Tri točke u kojima je evaluirana svjetlosna transmitancija označene su na krivulji kao početak osvjetljavanja, kraj osvjetljavanja i dodatno osvjetljavanje od 120 sekundi nakon prvog ciklusa osvjetljavanja.

Na Slici 30 predstavljeni su rezultati karakterizacije uređaja za polimerizaciju Bluephase G2 s obzirom na emisijski spektar i izlazni intenzitet kao funkciju vremena. Intenzitet polimerizacijskog uređaja bio je stabilan tijekom cijelog ciklusa osvjetljavanja od 30 s, što je bilo povoljno za mjerenja svjetlosne transmitancije. Na umetnutoj slici prikazan je primjer dvaju polimerizacijskih uređaja istog proizvođača kojima se intenzitet svjetlosti mijenja tijekom ciklusa osvjetljavanja, što može komplicirati mjerenja svjetlosne transmitancije (160). Intenzitet svjetlosti polimerizacijskog uređaja Bluephase G2 iznosio je $1185 \pm 50 \text{ mW/cm}^2$, što je u skladu sa specifikacijom proizvođača od 1200 mW/cm^2 i tolerancijom od 10 %.

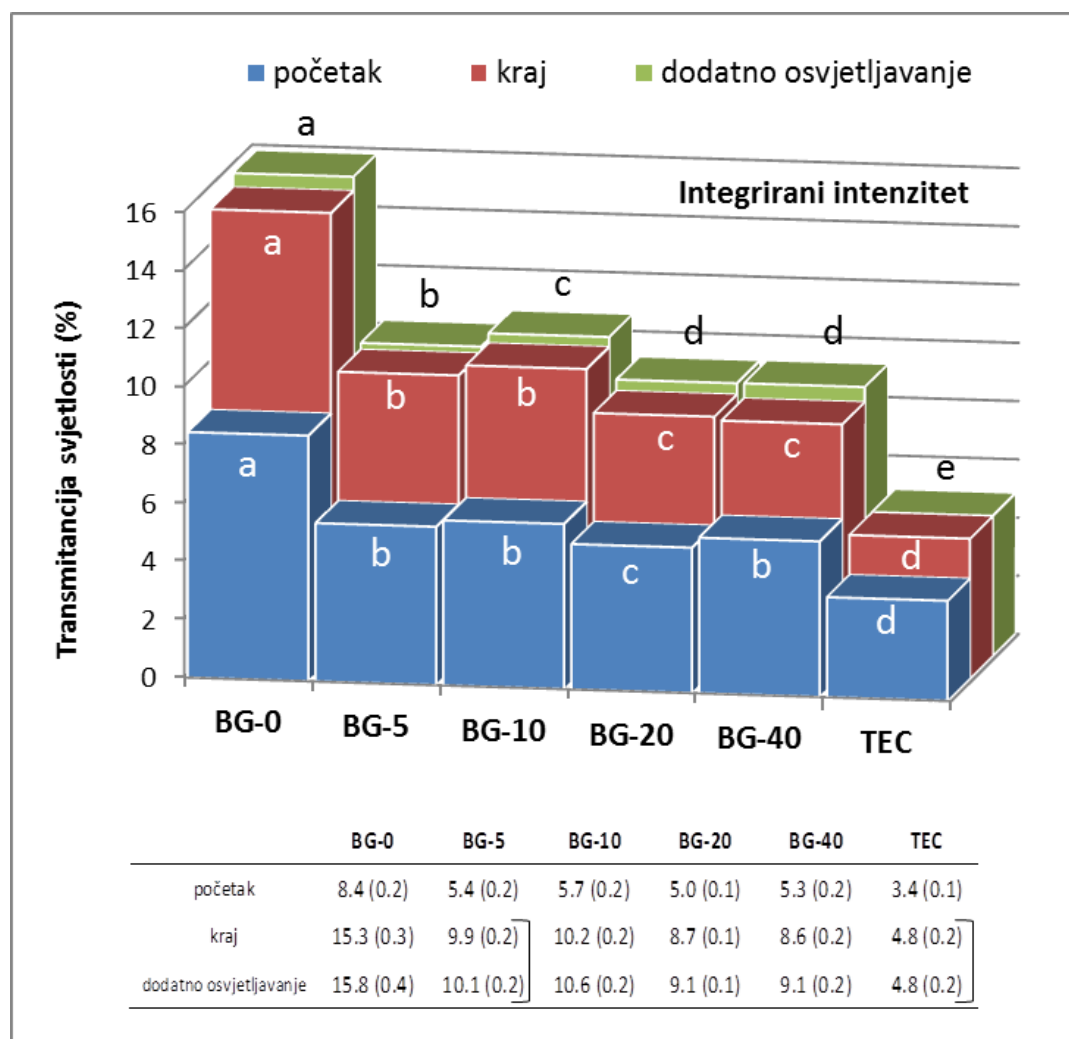


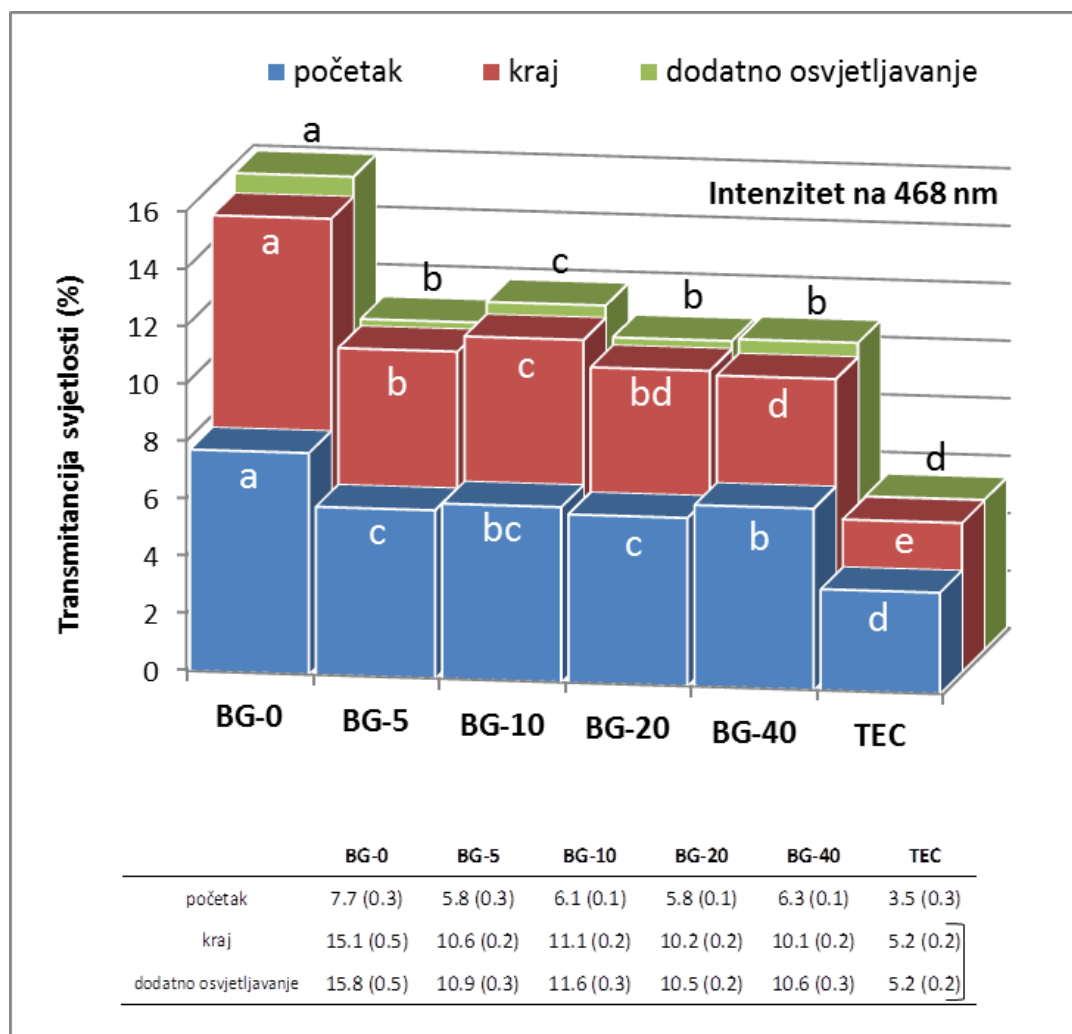
Slika 29. Reprezentativna krivulja svjetlosne transmitancije (materijal BG-10) snimljena u stvarnom vremenu tijekom svjetlosne aktivacije polimerizacije od 30 s i naknadnog osvjetljavanja od 30 s



Slika 30. Emisijski spektar i izlazni profil polimerizacijskog uređaja Bluephase G2 tijekom polimerizacijskog ciklusa od 30 s. Umetnuta slika prikaz je nestabilnog izlaznog profila nekih komercijalnih polimerizacijskih uređaja.

Srednje vrijednosti svjetlosne transmitancije (%) i rezultati statističke analize prikazani su na Slici 31. Provedena su dva različita pristupa određivanju svjetlosne transmitancije: uzimajući u obzir integrirani intenzitet cjelokupnog emisijskog spektra polimerizacijskog uređaja Bluephase G2 ili samo intenzitet pri valnoj duljini od 468 nm koja predstavlja apsorpcijski maksimum fotoinicijatora kamforkinona. U oba slučaja zabilježene su slične tendencije: kontrolni kompozit BG-0 pokazao je značajno više vrijednosti svjetlosne transmitancije u usporedbi s kompozitima koji sadržavaju BG punila, dok su razlike težinskog udjela BG punila 5 - 40 % imale vrlo malen učinak na svjetlosnu transmitanciju. Uz to, postupno povećanje težinskog udjela BG punila u seriji eksperimentalnih kompozita nije pokazalo sistematični učinak na vrijednosti svjetlosne transmitancije. Kod komercijalnog kontrolnog materijala (TEC) izmjerene su niže vrijednosti svjetlosne transmitancije nego kod eksperimentalnih kompozita.





Slika 31. Svjetlosna transmitancija (%) izmjerena u trima vremenskim točkama i izračunata iz integriranog intenziteta cijelog emisijskog spektra polimerizacijskog uređaja ili iz intenziteta pri valnoj duljini od 468 nm. Ista slova označavaju statistički homogene skupine za pojedinu vremensku točku. Uglate zagrade u tablici označavaju statistički slične vrijednosti za pojedini stupac. Standardne devijacije prikazane su u zagradama.

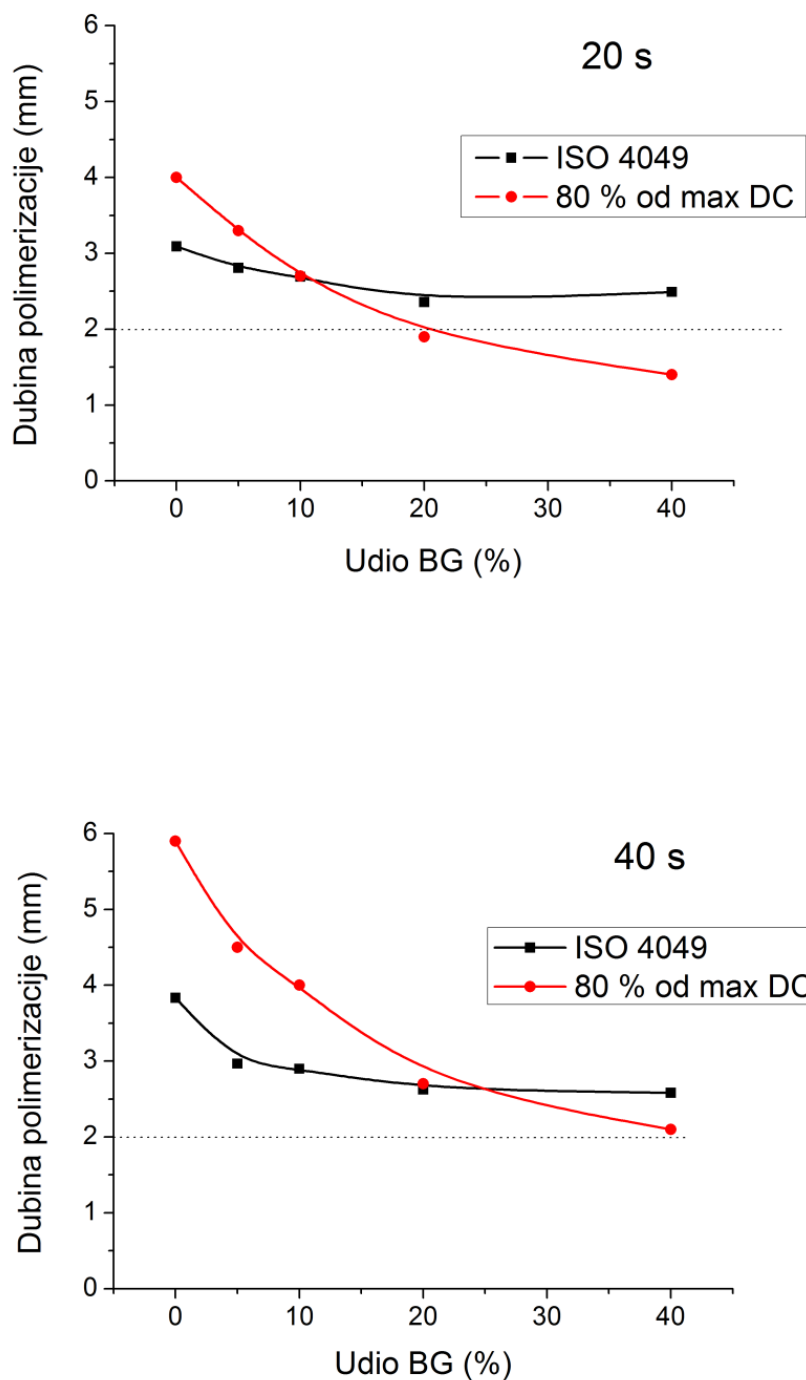
4.4. Dubina polimerizacije prema ISO 4049

Srednje vrijednosti dubine polimerizacije prema ISO 4049 prikazane su u Tablici 5. Dulje vrijeme osvjetljavanja omogućilo je veće dubine polimerizacije, a vidljiv je i negativan učinak većih udjela BG punila na dubinu polimerizacije koja se sustavno smanjuje od materijala BG-0 prema BG-40.

Za usporedbu vrijednosti dubine polimerizacije dobivenih određivanjem 80 % maksimalnog DC-a, odnosno klasičnom metodom ISO 4049, na Slici 32 prikazane su krivulje koje prikazuju ovisnost dubine polimerizacije određene objema metodama o udjelu BG punila u eksperimentalnim kompozitima. Obje metode pokazuju istu tendenciju opadanja dubine polimerizacije s većim udjelima BG punila, ali pokazuju neslaganje u pogledu apsolutnih vrijednosti dubine polimerizacije. Stupanj neslaganja između dviju metoda izrazito se razlikovao među pojedinim materijalima.

Tablica 5. Dubina polimerizacije (mm) određena prema ISO 4049. Ista slova označavaju statistički homogene skupine unutar pojedinog retka. Sve razlike unutar stupaca statistički su značajne. Standardne devijacije prikazane su u zagradama.

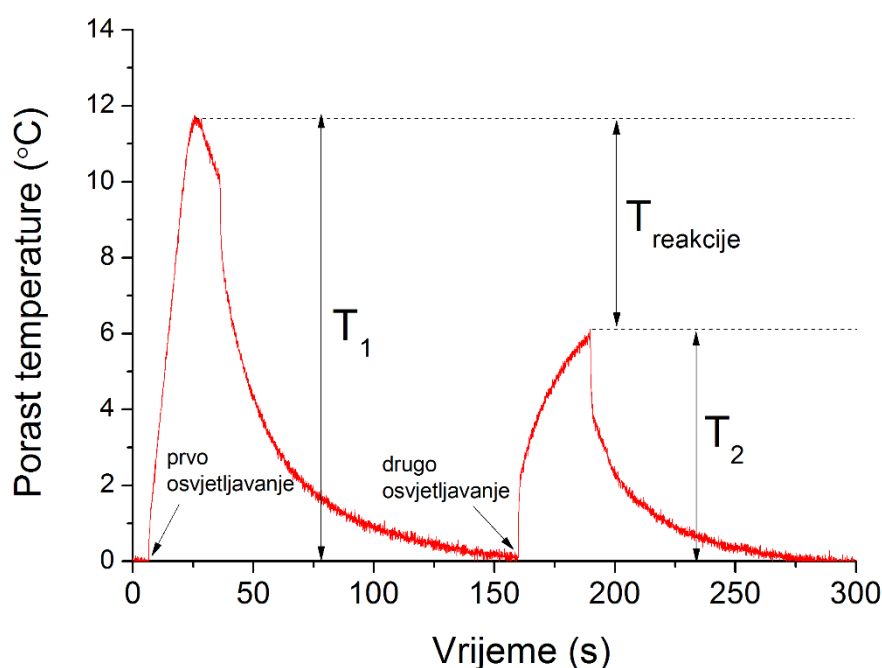
Vrijeme osvjetljavanja	Materijal					
	BG-0	BG-5	BG-10	BG-20	BG-40	TEC
20 s	3.1 (0.1) a	2.8 (0.1) b	2.7 (0.1) c	2.4 (0.1) d	2.5 (0.1) e	2.4 (0.1) d
40 s	3.8 (0.1) a	3.0 (0.1) b	2.9 (0.1) b	2.6 (0.1) cd	2.6 (0.1) d	2.7 (0.1) c



Slika 32. Usporedba vrijednosti dubine polimerizacije određene kao 80 % maksimalnog DC-a i prema metodi ISO 4049. Isprekidana linija na 2 mm označava dubinu polimerizacije koja odgovara standardnoj debljini sloja preporučenoj kod primjene konvencionalnih kompozita.

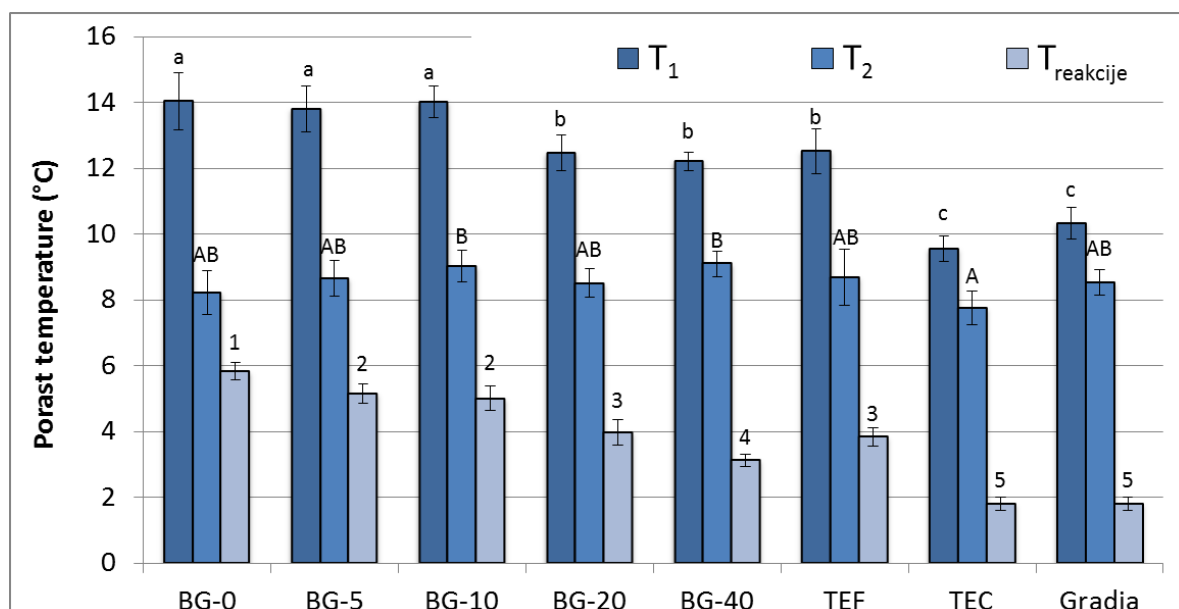
4.5. Porast temperature tijekom polimerizacije

Reprezentativna krivulja porasta temperature prikazana je na Slici 33. Maksimalna vrijednost zabilježena tijekom prvog osvjetljavanja (T_1) predstavlja ukupni porast temperature tijekom svjetlosno aktivirane polimerizacije, dok maksimalna vrijednost tijekom drugog osvjetljavanja (T_2) odražava učinak zagrijavanja polimerizacijskim uređajem. Razlika između T_1 i T_2 predstavlja porast temperature zbog egzotermne reakcije (T_{reakcije}).



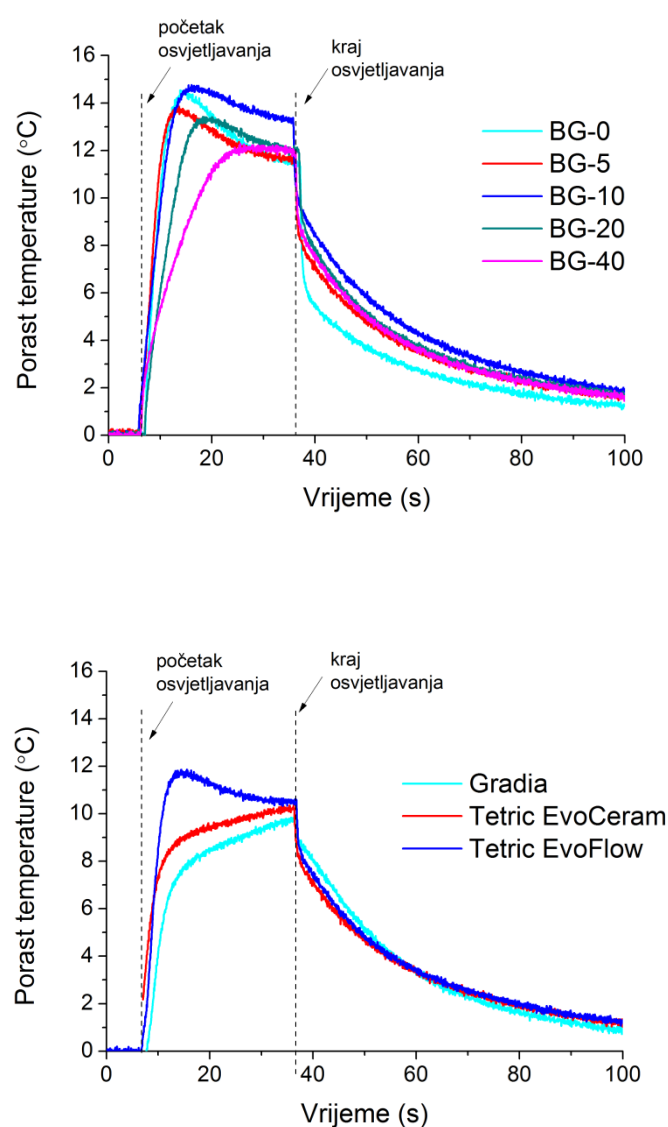
Slika 33. Reprezentativna krivulja porasta temperature u stvarnom vremenu (materijal: TEF). Vršna vrijednost porasta temperature tijekom prvog osvjetljavanja (T_1) predstavlja porast temperature tijekom svjetlosne aktivacije polimerizacije koji je zbroj doprinosa zagrijavanja polimerizacijskim uređajem i egzotermne reakcije polimerizacije. Druga vršna vrijednost (T_2) može se pripisati isključivo zagrijavanju polimerizacijskim uređajem. Razlika između dviju navedenih vrijednosti predstavlja porast temperature zbog egzotermne reakcije (T_{reakcije}).

Srednje vrijednosti T_1 , T_2 i T_{reakcije} prikazane su na Slici 34. Porast temperature zbog zagrijavanja polimerizacijskim uređajem (T_2) bio je sličan kod svih materijala. Vrijednosti T_1 kod materijala BG-20 i BG-40 bile su statistički značajno niže nego kod eksperimentalnih kompozita s nižim udjelima BG punila. Vrijednosti T_{reakcije} imale su statistički veću diskriminativnu vrijednost s obzirom na udio BG punila i pokazale su postupni pad s porastom udjela BG-a. Kod tekućeg komercijalnog kompozita (TEF) izmjerene su vrijednosti parametara T_1 i T_{reakcije} slične vrijednostima materijala BG-20, dok su vrijednosti T_1 i T_{reakcije} kod čvrstih komercijalnih kompozita (TEC i Gradia) bile niže u usporedbi s eksperimentalnim kompozitima.

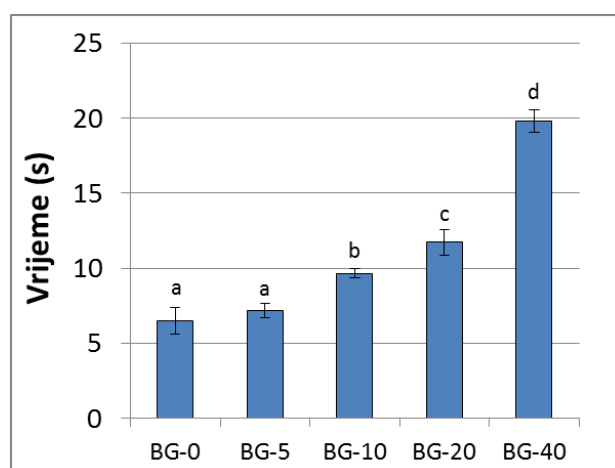


Slika 34. Srednje vrijednosti (\pm s.d.) porasta temperature tijekom svjetlosne aktivacije polimerizacije (T_1), tijekom naknadnog osvjetljavanja (T_2) i egzotermne reakcije (T_{reakcije}). Statistički homogene skupine označene su istim malim slovima za T_1 , istim velikim slovima za T_2 te istim brojevima za T_{reakcije} .

Slika 35 prikazuje krivulje temperaturnog porasta tijekom prvog osvjetljavanja. Kod eksperimentalnih kompozita vršna vrijednost temperaturnog porasta postajala je niža i pomicala se prema kasnijim vremenima s porastom udjela BG punila. Kod komercijalnih kompozita vršna vrijednost opažena je samo kod tekućeg materijala (TEF), dok je kod čvrstih materijala (TEC i Gradia) temperatura rasla kontinuirano prema kraju ciklusa osvjetljavanja. Vrijeme pri kojem je temperaturni porast postigao maksimalnu vrijednost prikazano je na Slici 36. Zabilježen je statistički značajan utjecaj udjela BG punila na vrijeme postizanja vršne vrijednosti u krivuljama temperaturnog porasta.

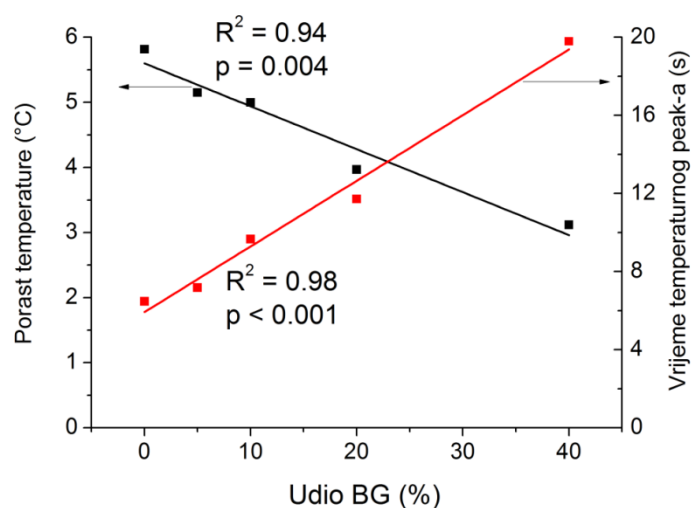


Slika 35. Uvećani prikaz početnog dijela temperaturnih krivulja (tijekom prvog osvjetljavanja) kod eksperimentalnih kompozita i komercijalnih kompozita



Slika 36. Vrijeme vršne vrijednosti temperaturnog porasta (srednje vrijednosti \pm s.d.) kod eksperimentalnih kompozita. Statistički homogene skupine označene su istim slovima.

Slika 37 prikazuje porast temperature zbog egzotermne reakcije (T_{reakcije}) i vrijeme vršne vrijednosti porasta temperature kao funkciju udjela BG punila u eksperimentalnim kompozitima. Ustanovljene su visokoznačajne korelacije s koeficijentima determinacije od 0,94 i 0,98.

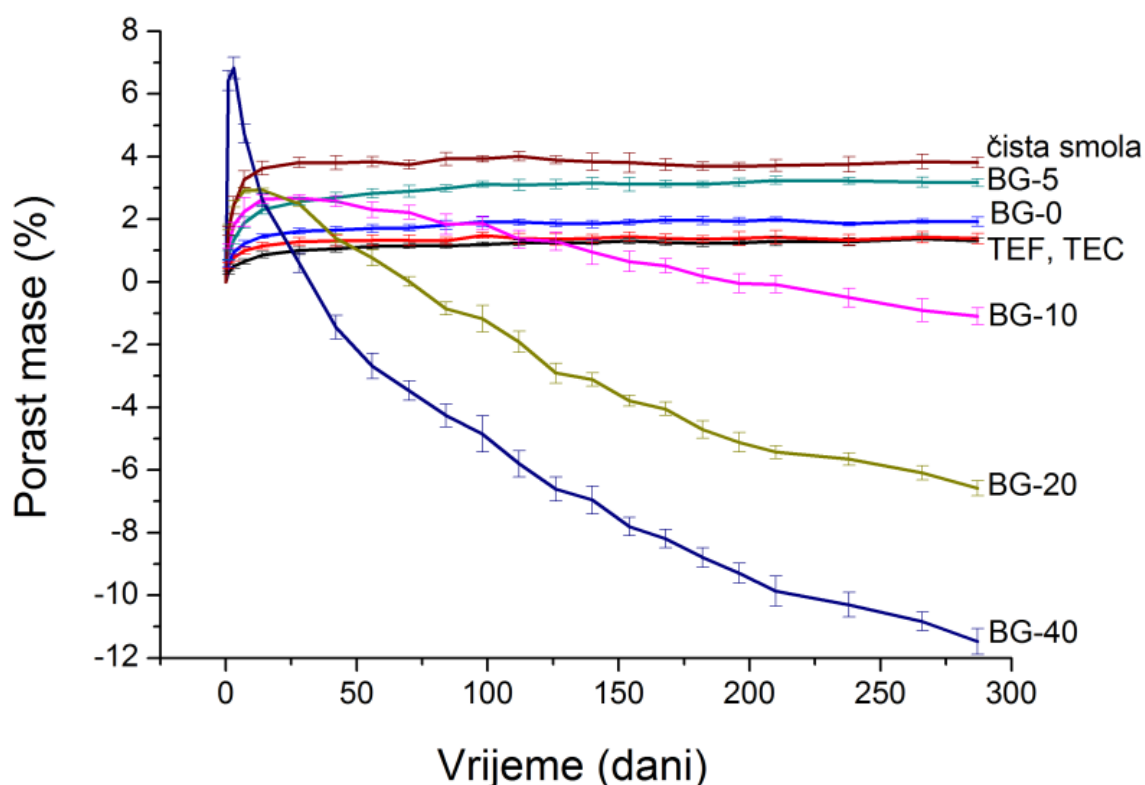


Slika 37. Porast temperature i vrijeme vršne vrijednosti temperaturnog porasta kao funkcija težinskog udjela BG-a

4.6. Apsorpcija vode i solubilnost

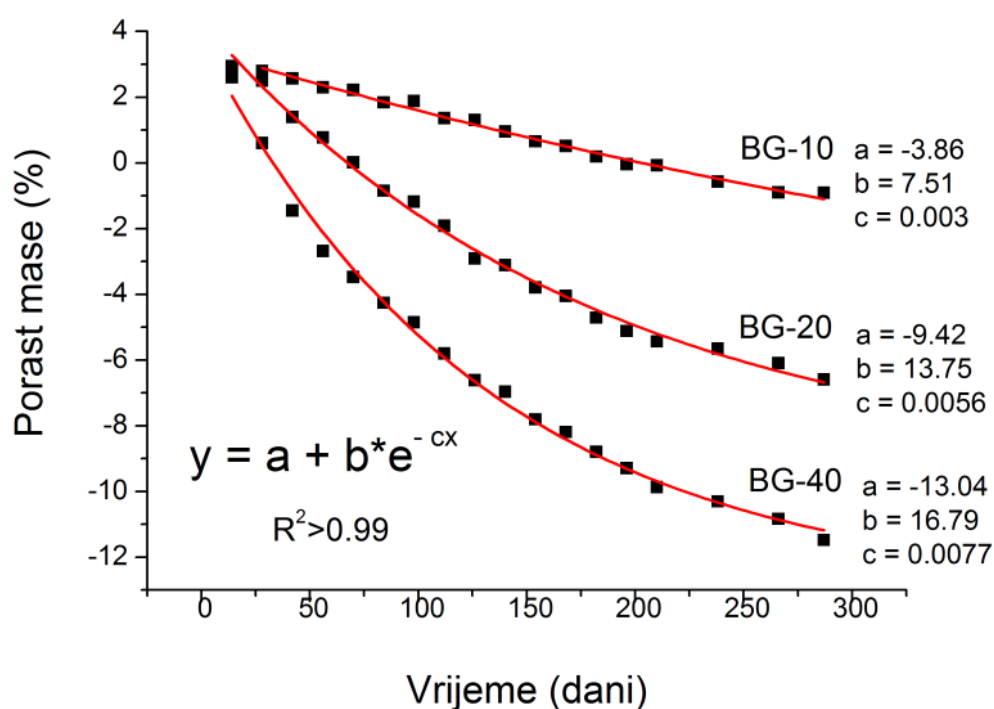
Promjene mase izražene kao postotak početne mase prikazane su na Slici 38. Opažena su dva karakteristična obrasca promjena mase. Prvi je obrazac uobičajen za konvencionalne kompozite i karakteriziran je postupnim porastom mase nakon kojeg slijedi postizanje ravnoteže koje se na krivuljama opaža kao plato. Opisani obrazac pojavio se kod komercijalnih materijala (TEC i TEF), čiste smole te kod eksperimentalnih materijala BG-0 i BG-5. Pri drugom obrascu promjena mase krivulje umjesto platoa dosežu vršnu vrijednost nakon koje se masa počinje smanjivati zbog izražene i dugotrajne topljivosti BG punila. Takav obrazac opažen je kod eksperimentalnih materijala BG-10, BG-20 i BG-40.

Čista smola dosegla je ravnotežu pri porastu mase od oko 4 %, slično kao i BG-5 (3 %). Kompoziti s težinskim udjelima BG punila 10 – 40 % nisu dosegli ravnotežu do kraja mjerenja (287 dana).



Slika 38. Promjene mase tijekom imerzije uzoraka u vodi tijekom razdoblja od 287 dana. Stupci pogrešaka označavaju ± 1 s.d.

Zahvaljujući velikom broju mjerenja bilo je moguće na dobivene podatke uz visoke koeficijente determinacije ($R^2 > 0,99$) prilagoditi funkciju $y = a + b \cdot e^{-cx}$ s pomoću koje su aproksimirane vrijednosti mase pri postizanju ravnoteže (Slika 39). U takvoj funkciji, približavanjem vrijednosti na osi x prema beskonačnosti, vrijednosti na osi y asimptotski se približavaju parametru „a“. Stoga se navedeni parametar može smatrati promjenom mase koja bi se ostvarila pri postizanju ravnoteže. Opisana ekstrapolacija za materijale BG-10, BG-20 i BG-40 rezultirala je promjenama mase od -4 %, -9 % i -13 % (Slika 39). Potrebno je napomenuti kako ostalim parametrima funkcije nije pridodano nikakvo fizikalno značenje, već je funkcija odabrana empirijski zbog jednostavnosti i prikladnosti za prilagodbu eksperimentalnim podacima. U literaturi su opisane kompleksne kalkulacije za modeliranje difuzije vode kroz kompozitne materijale (201), međutim one nadilaze opseg ovog istraživanja.



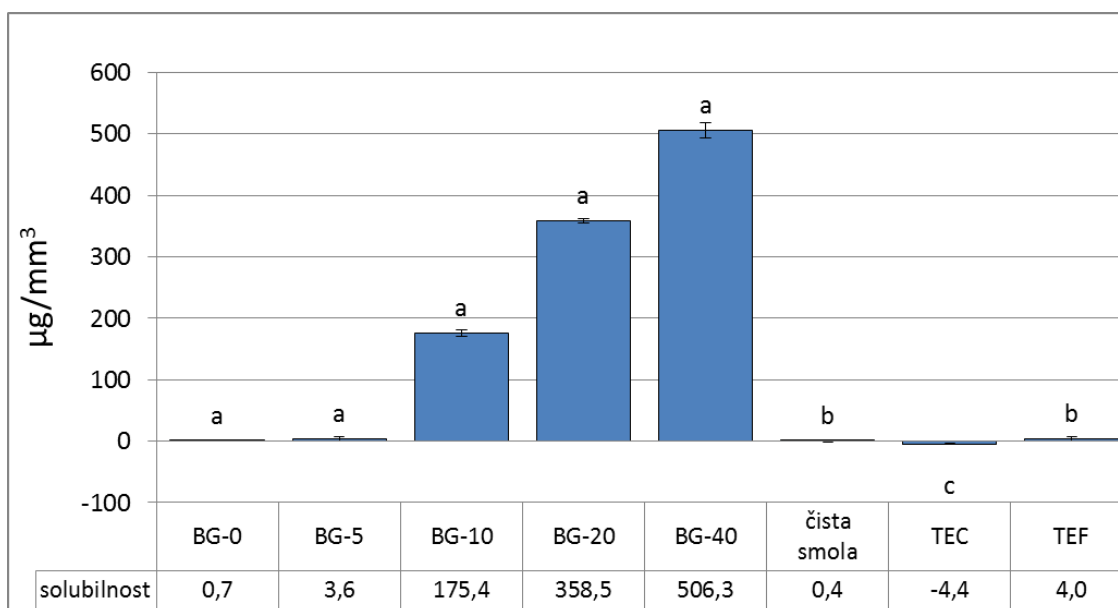
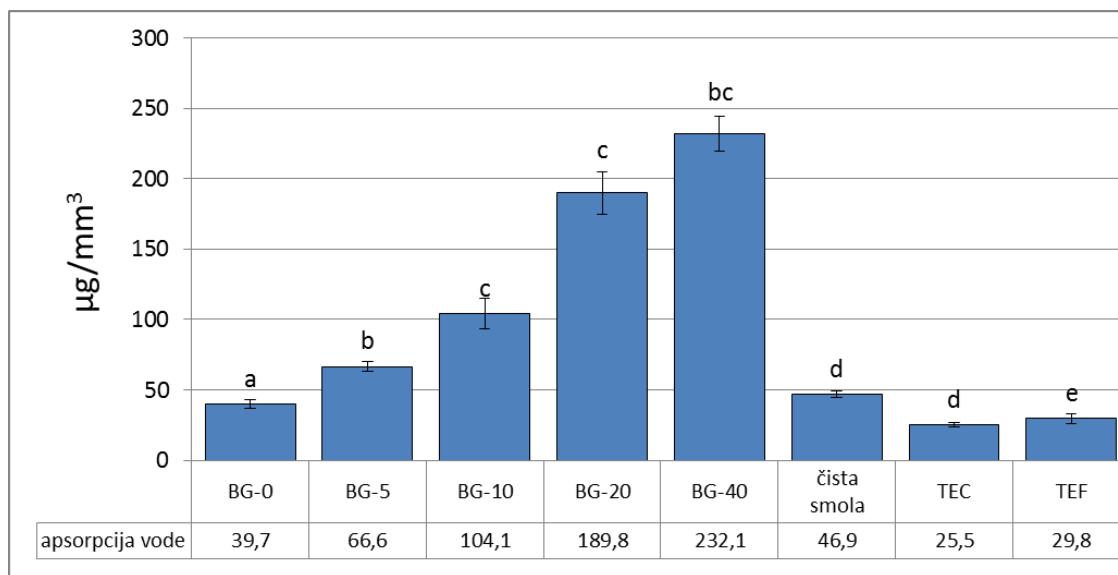
Slika 39. Funkcije prilagodbe i pripadajući parametri koji su se koristili za aproksimaciju mase pri postizanju ravnoteže kod vrlo topljivih materijala BG-10, BG-20 i BG-40

Jednostavan parametar kojim se može opisati dinamika apsorpcije vode i istovremeno otpuštanje topljivih sastojaka vrijeme je postizanja ravnoteže (Tablica 5). Navedeni parametar određen je kao prva vremenska točka nakon koje je ANOVA za ponavljana mjerenja pokazala statistički slične vrijednosti mase za sve naredne vremenske točke. Vremena do postizanja ravnoteže kod eksperimentalnih materijala BG-0 i BG-5 (70 i 56 dana) bila su slična vrijednosti opaženoj kod čvrstog komercijalnog kompozita TEC (56 dana). Kod eksperimentalnih kompozita s višim udjelima BG punila (BG-10, BG-20 i BG-40) gubitak mase nastavio se sve do 287. dana zbog dugoročne topljivosti, stoga njihovo vrijeme ravnoteže nije precizno određeno.

Tablica 5. Vrijeme do postizanja ravnoteže, definirano kao vremenska točka nakon koje su srednje vrijednosti mase bile statistički slične

	Materijal	Vrijeme (dani)
Eksperimentalni materijali	BG-0	70
	BG-5	56
	BG-10	>287
	BG-20	>287
	BG-40	>287
	čista smola	7
Komercijalni	TEC	56
materijali	TEF	14

Vrijednosti apsorpcije vode i solubilnosti izražene u $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ prikazane su na Slici 40. Referentne vrijednosti koje predstavljaju gornju granicu za dentalne kompozite propisane prema standardu ISO 4049 su $40 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ za apsorpciju vode i $7,5 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ za solubilnost. Navedeni uvjeti ispunjeni su kod komercijalnih kompozita TEC i TEF, dok su eksperimentalni kompoziti premašili propisane maksimalne vrijednosti. U seriji BG kompozita jedino je kontrolni materijal (BG-0) zadovoljio oba kriterija, dok je materijal BG-5 zadovoljio kriterij solubilnosti, ali ne i apsorpcije vode. Materijali s visokim udjelom BG punila (BG-20 i BG-40) imali su ekstremno visoke vrijednosti solubilnosti koje su bile i više od 100 puta veće u odnosu na vrijednosti izmjerene kod komercijalnih kompozita.



Slika 40. Apsorpcija vode i solubilnost izražene u $\mu\text{g}/\text{mm}^3$. Stupci pogrešaka predstavljaju ± 1 s.d.

5. RASPRAVA

U ovom su radu istražene nove formulacije eksperimentalnih bioaktivnih kompozitnih materijala s različitim udjelima BG punila. Ukupan težinski udio punila bio je 70 %, što je usporedivo s vrijednostima kod komercijalnih tekućih kompozitnih materijala (13). Udio punila veći od 70 % nije bilo moguće ostvariti s obzirom na prisutnost malih čestica silika punila koje zbog svoje velike površine značajno povećavaju viskoznost kompozitne paste (7). Razmjerno visok udio silika punila u eksperimentalnim kompozitima bio je nužan za bioaktivni učinak (202). Ako bi se u daljnjim istraživanjima udio silika punila mogao smanjiti bez negativnog utjecaja na bioaktivnost, ukupan težinski udio punila mogao bi teoretski doseći oko 80 % i na taj način biti sličan udjelu kod komercijalnih viskoviskoznih (čvrstih) kompozita (203).

Težinski udio BG punila kod eksperimentalnih kompozita sistematski je povećavan 0 – 40 % kako bi se ispitao učinak BG-a na neka od temeljnih svojstava kompozitnih materijala koja predstavljaju nužan preduvjet za njihovu kliničku primjenjivost: DC, transmitanciju svjetlosti, dubinu polimerizacije, porast temperature tijekom polimerizacije te apsorpciju vode i solubilnost. Ovakav pristup omogućit će prilagodbu sastava bioaktivnih kompozita u budućim istraživanjima sa svrhom uravnoteživanja i optimizacije klinički važnih svojstava.

5.1. Precipitacija hidroksiapatita

Bioaktivni učinak eksperimentalnih materijala procijenjen je precipitacijom HA nakon imerzije u PBS-u (79, 204). Ovo je uobičajeni pristup za karakterizaciju bioaktivnosti eksperimentalnih kompozita s BG punilima, s obzirom na to da je ključno svojstvo BG-a upravo površinska precipitacija otpuštenih iona u obliku HA (79, 202). Alternativna metoda određivanja bioaktivnosti koja se koristi kod eksperimentalnih kompozita s punilima od različitih kalcijevih fosfata temelji se na mjerenju koncentracije iona otpuštenih u vodeni medij (25). Međutim, za razliku od navedenih kompozita kod kojih dominira otpuštanje iona u otopinu, kod eksperimentalnih materijala s BG-om glavni je efekt lokalno otpuštanje iona udruženo s njihovom precipitacijom na površini (205). Navedenu pojavu omogućava niz reakcija koje se odvijaju otapanjem BG-a, pri čemu na površini BG-a nastaje sloj hidratizirane silike koji potiče nukleaciju i rast kristala HA (206). Stoga površina BG kompozita ima sposobnost precipitacije iona otpuštenih iz samog BG-a, ali i iona prisutnih u okolnom mediju, primjerice fosfatovih iona iz PBS-a (207). U kliničkim uvjetima ova se pojava odnosi na precipitaciju iona iz sline (208) ili topikalno primijenjenih remineralizacijskih otopina

(209). Iako još nedovoljno istraženo, svojstvo lokalnog zadržavanja otpuštenih iona u obliku precipitata HA, umjesto gubitka iona u otopinu koje se pojavljuje kod većine drugih remineralizirajućih kompozita, moglo bi doprinijeti brtvljenju marginalne pukotine i boljoj prevenciji sekundarnog karijesa (102).

Precipitacija HA istražena je nakon imerzije u PBS-u, koja ima sastav sličan umjetnoj slini (114). Stoga PBS sadržava slične ione koji se pojavljuju u kliničkim okolnostima, ali bez organskih komponenata sline (210). Važno svojstvo PBS-a njegov je puferski učinak koji je spriječio prekomjeran pad pH-vrijednosti tijekom imerzije (211). Naime, niz kemijskih reakcija koje se odvijaju tijekom otapanja BG-a u vodi dovodi do snižavanja pH-vrijednosti (212). Uporabom PBS-a učinak sniženja pH donekle je eliminiran. Međutim, u nastavku istraživanja bilo bi poželjno ispitati kako pad pH-vrijednosti u nepuferiranoj vodenoj otopini utječe na precipitaciju HA iz eksperimentalnih BG kompozita. Takav scenarij bio bi klinički opravdan s obzirom na to da je u prostoru mikropukotine prisutan vrlo malen volumen tekućine čiji se puferski kapacitet može brzo iscrpiti. Stoga bi se u kliničkim uvjetima otpuštanje iona i precipitacija HA iz BG kompozita odvijala pri nižim pH-vrijednostima (213) od konstantnog pH od oko 7,4, koji je održavan primjenom PBS-a u ovom radu.

U detekciji precipitata HA na površini eksperimentalnih kompozita Ramanova spektroskopija (214) pokazala se neprikladnom, dok je s pomoću DRIFT spektroskopije i SEM snimki bilo moguće dobiti uvid u prisutnost i morfologiju precipitata HA. Očekivano, kod materijala BG-0 nije zabilježena prisutnost HA precipitata, kod materijala BG-5 uočene su naznake HA kristala, a kod materijala s udjelom BG-a 10 - 40 % potvrđena je prisutnost HA temeljem identifikacije karakterističnih vibracijskih vrpca i morfoloških karakteristika na SEM snimkama (215). Kompozitni materijali s većim udjelima BG punila pokazali su izraženiji bioaktivni učinak, što se očitovalo višim intenzitetima vibracijskih vrpca u DRIFT spektrima te boljom pokrivenošću površine kompozitnih uzoraka precipitatom HA. Na SEM snimkama pri većim povećanjima moguće je uočiti kako materijali s većim udjelima BG punila precipitiraju sloj HA veće debljine i drukčije morfologije. Umjesto manjih pojedinačnih kristala HA opaženih u slučaju materijala BG-10, kod materijala BG-20 i BG-40 precipitat se pojavio u obliku gustih globularnih struktura i pokrivao je veću površinu uzorka. Potrebno je napomenuti da je karakterizacija precipitata HA obavljena nakon razmjerno kratkog vremena imerzije u PBS-u od 7 dana i da bi nakon duljih vremena precipitat HA vjerojatno bio izraženiji. Navedeno se osobito odnosi na materijal BG-5 kod kojeg su zapažene tek naznake precipitata HA, međutim nije moguće isključiti pretpostavku da bi se izraženiji precipitat

formirao nakon dužih vremena imerzije. Opsežnija istraživanja dinamike i uvjeta precipitacije HA (82) na površini eksperimentalnih kompozita izvan su opsega ovog rada. Naime, za početnu karakterizaciju eksperimentalnih bioaktivnih kompozita, koja je predmet ovog rada, bilo je dostatno kvalitativno i semikvantitativno demonstrirati njihovu sposobnost formiranja HA precipitata u simuliranim fiziološkim uvjetima.

EDS spektroskopija omogućava kvantitativnu elementarnu analizu temeljem emisije fotona valnih duljina karakterističnih za pojedini element tijekom pobuđivanja visokim energijama elektrona (216). Na Slici 23 prikazan je EDS spektar površine materijala BG-40 nakon sedmodnevne imerzije u PBS-u. Ova analiza pokazala je da je prethodno detektiran sloj HA prema kemijskom sastavu kalcij-deficitarni HA (217). Takav sastav HA posljedica je manjeg omjera kalcijevih i fosfatovih iona raspoloživih za precipitaciju nego što je potrebno za taloženje stehiometrijskog HA, u kojemu omjer Ca/P iznosi 1,67 (80). Mogući uzrok precipitacije kalcij-deficitarnog HA s Ca/P omjerom od 1,52 izmjerenim u ovom istraživanju nerazmjer je koncentracija kalcijevih i fosfatovih iona zbog prisutnosti fosfatovih iona iz PBS-a. Moguće je pretpostaviti kako bi se u otopinama drukčijih ionskih sastava precipitali HA drukčijih omjera kalcija i fosfata (218).

5.2. Stupanj konverzije

DC je određen primjenom Ramanove spektroskopije u eksperimentalnom postavu koji se prethodno pokazao učinkovitim za mjerenja na različitim dubinama istog uzorka (26). Ponavljana mjerenja na različitim mjestima istog uzorka ekonomična su i vremenski učinkovita jer uvjetuju manje laboratorijskog rada i manju potrošnju materijala. Alternativni pristupi s pomoću FTIR ili ATR-FTIR spektroskopija zahtijevali bi više laboratorijskog rada i veći utrošak materijala jer bi za svaku dubinu bilo potrebno pripremiti zaseban uzorak, a kad je riječ o klasičnoj FTIR spektroskopiji u transmisijskom modu, svaki uzorak trebalo bi dodatno usitniti u prah, pomiješati s kalijevim bromidom i prešanjem pripremiti pastilu (219).

Dio Ramanova spektra koji se koristi za izračunavanje DC-a prikazan je na Slici 24. Intenzitet vrpce na 1638 cm^{-1} proporcionalan je koncentraciji C=C veza, a vrpca na 1608 cm^{-1} koristi se kao interni standard za normiranje spektara (220). Naime, budući da intenzitet cjelokupnog spektra ovisi o nizu eksperimentalnih uvjeta poput snage lasera, strukture površine uzorka, kemijskog sastava uzorka, ali i geometrije te položaja uzorka tijekom prikupljanja spektra,

intenziteti vrpce na 1638 cm^{-1} ne mogu se izravno uspoređivati između spektara snimljenih na različitim uzorcima. Stoga se kao referentna odabire vibracijska vrpca koja pripada vibraciji kemijskog spoja čija je koncentracija konstantna (221). Normiranjem spektara prikupljenih iz različitih mjerenja prema navedenoj vrpci s nepromjenjivim intenzitetom moguće je izravno uspoređivati intenzitete vrpce na 1638 cm^{-1} i na taj je način iskoristiti za računanje udjela dvostrukih C=C veza utrošenih tijekom polimerizacije (120). Opisani postupak prikazan je na Slici 24 gdje su spektri nepolimeriziranog i polimeriziranog kompozita normirani prema referentnoj vrpci koja je jednakog intenziteta kod svih prikazanih spektara. Vidljiv je značajan pad intenziteta vrpce na 1638 cm^{-1} u polimeriziranom materijalu koji odražava trošenje C=C veza.

Slika 25 prikazuje spektre prikupljene s pojedinih dubina istog uzorka u usporedbi sa spektrom nepolimeriziranog materijala. Kao što je prethodno opisano, svi su spektri normirani na referentnu vrpcu, što je vidljivo iz istog intenziteta (visine) vrpce na 1608 cm^{-1} . Uočljiv je postupni porast intenziteta prema većim dubinama, što odražava više neutrošenih dvostrukih C=C veza zbog slabije učinkovitosti svjetlosno aktivirane polimerizacije. Na spektrima koji odgovaraju dubinama od 0 i 1 mm intenzitet vrpce koja pripada C=C vibraciji vrlo je sličan, što ukazuje na približno homogenu polimerizaciju unutar sloja od 1 mm. S daljnjim porastom debljine sloja intenzitet C=C vrpce raste, a na najvećoj dubini (4 mm) postaje blizak intenzitetu opaženom kod nepolimeriziranog materijala. Takav nalaz ukazuje na vrlo nisku učinkovitost svjetlosno aktivirane polimerizacije na dubini od 4 mm.

Vrijednosti parcijalnih eta-kvadrata u Tablici 3 pokazuju da su svi čimbenici (materijal, debljina i vrijeme osvjetljavanja) imali visokoznačajan učinak na DC kod eksperimentalnih kompozita. Interakcije svih kombinacija navedenih čimbenika bile su također visokoznačajne, što ukazuje na činjenicu da je učinak svakog pojedinog čimbenika ovisio o razini ostalih čimbenika. Stoga su glavni učinci analizirani zasebno za svaku kombinaciju materijala, debljine i vremena osvjetljavanja (Slika 26 i Tablica 4).

Parcijalni eta-kvadrati izračunati pojedinačno za svaki materijal (Tablica 4) upućuju na konzistentno povećanje učinka čimbenika *debljina* s povećanjem težinskog udjela BG punila, ukazujući na činjenicu da veći udjeli BG-a povećavaju osjetljivost eksperimentalnih kompozitnih materijala na smanjenje učinkovitosti polimerizacije s porastom debljine sloja. Isti učinak može se uočiti na Slici 26 iz tendencija smanjenja DC-a pri povećanju debljine sloja. Učinak čimbenika *vrijeme osvjetljavanja* također je bio povećan kod kompozita s većim

težinskim udjelima BG-a, odražavajući činjenicu da je njihov DC izraženije poboljšan produženjem vremena osvjetljavanja s 20 s na 40 s. Usporedbom vrijednosti DC-a između dvaju vremena osvjetljavanja za pojedini kompozit i debljinu sloja (Slika 26), može se uočiti kako duže vrijeme osvjetljavanja nije imalo učinak na slojevima debljine do 3 mm kod materijala BG-0 i BG-5, dok su kod svih ostalih materijala (uključujući i komercijalni kontrolni materijal TEC) vrijednosti DC-a pri debljinama većim od 1 mm bile značajno povećane pri dužem vremenu osvjetljavanja (40 s).

Uz nalaz prema kojem povišeni težinski udio BG punila povećava osjetljivost DC-a na čimbenike *debljina* i *vrijeme osvjetljavanja*, zapažena je i tendencija smanjenja vrijednosti DC-a povećanjem udjela BG punila koja je bila konzistentna pri svim razinama i kombinacijama čimbenika *debljina* i *vrijeme osvjetljavanja* (Slika 26). Navedeni je nalaz neočekivan s obzirom na to da se u skladu s prethodnim iskustvima očekivalo da će prisutnost BG punila povećati DC dvama mehanizmima. Prvo, smanjenjem međugranične površine između čestica punila i smolaste matrice porastom udjela BG-a. Naime, ukupna se površina čestica punila smanjivala s povećanjem udjela BG punila zato što su manje čestice barijeva stakla i silike zamijenjene većim česticama BG-a (128). Drugo, pretpostavljalo se kako će nedostatak silana na površini BG punila povećati DC, temeljem nalaza iz prethodnih istraživanja eksperimentalnih kompozitnih materijala punjenih nesilaniziranim česticama amorfno kalcijeva fosfata za koje se smatra da povećavaju mobilnost smolaste matrice tijekom polimerizacije (123, 161, 222). Budući da se kod svih eksperimentalnih kompozita pojavio suprotan učinak, eksplanatorna je hipoteza da nesilanizirana BG punila pokazuju izravan inhibitorni učinak na polimerizaciju metakrilatne smolaste matrice. Alternativno objašnjenje prema kojem bi udio BG punila neizravno utjecao na DC posredstvom smanjenja svjetlosne transmitancije kroz kompozitni materijal nije vjerojatno s obzirom na to da je inhibitorni učinak zabilježen kod svih BG kompozita pri debljini sloja od 0 mm (površina uzorka) na kojoj je učinak svjetlosne transmitancije zanemariv.

Značajan naknadni porast vrijednosti DC-a 24 sata nakon osvjetljavanja u rasponu 9,6 – 14,1 % zabilježen je kod svih eksperimentalnih kompozita. Iznos naknadnog porasta DC-a smanjivao se s porastom težinskog udjela BG punila (Slika 27). Navedena tendencija smanjivanja naknadne polimerizacije opažena je kod obaju vremena osvjetljavanja, iako pri osvjetljavanju od 40 s nije bio statistički značajan zbog male veličine učinka u odnosu na varijabilnost podataka (223). Kod komercijalnih kompozita smolaste matrice s nižim početnim vrijednostima DC-a uobičajeno pokazuju opsežniju naknadnu polimerizaciju jer

sadržavaju veće količine monomera raspoloživih za nastavak polimerizacije (31). Eksperimentalni BG kompoziti pokazali su obrnuto ponašanje – materijali s većim težinskim udjelima BG-a imali su uz niži početni DC i niži porast DC-a zbog naknadne polimerizacije. Ovaj nalaz naglašava činjenicu da je učinak BG-a ireverzibilna inhibicija, a ne samo usporavanje polimerizacijske reakcije, s obzirom na to da u eksperimentalnim kompozitima naknadna polimerizacija nije mogla kompenzirati inicijalno niže vrijednosti DC-a (133).

Negativan učinak BG punila na učinkovitost polimerizacije dentalnih kompozita do sada nije opisan, ali u literaturi postoje dokazi sličnog učinka u različitim polimerizacijskim reakcijama posredovanim slobodnim radikalima, primjerice u epoksi (224), poliesterskim (225) i metil metakrilatnim smolama (226). Općenito, polimerizacija posredovana slobodnim radikalima može se inhibirati prihvaćanjem elektrona od oksida na površini čestica punila (227). Iako se pri takvoj reakciji troši jedna metakrilatna dvostruka veza, gubitak reaktivne skupine onemogućava nastavak adicije molekula monomera na polimerni lanac (228), što naposljetku dovodi do nižih vrijednosti DC-a. S druge strane, opisani učinak ne mora utjecati na konačne vrijednosti DC-a u svim slučajevima, kao što je demonstrirano u istraživanju kompozita temeljenih na metil metakrilatnoj smoli koji su aktivirani benzoil peroksidom. U navedenom istraživanju opažena je inhibicija polimerizacijske reakcije posredovane slobodnim radikalima koja se odrazila na brzinu polimerizacije, ali bez negativnog učinka na konačne vrijednosti DC-a (229).

Budući da se opisana inhibicija odvija zahvaljujući prijenosu naboja u izravnom dodiru smole i oksida na površini čestica punila, silanizacija punila učinkovito sprečava inhibicijski učinak (224, 225, 227). Navedeno je potkrijepljeno nalazom prema kojem se kod eksperimentalnih dentalnih adhezivnih sustava punjenih s 40 % silaniziranog BG-a nije pojavio inhibicijski učinak BG-a na polimerizaciju smole (110). S druge strane, naznake inhibicijskog učinka opisane su u istraživanju eksperimentalnih caklinskih infiltranata temeljenih na Bis-GMA/TEGDMA smolastoj matrici punjenih različitim bioaktivnim punilima, pri čemu su kod materijala punjenog s 10 % cinkom modificiranog BG-a izmjerene vrijednosti DC-a za 8 % niže nego u čistoj smoli (230). Navedena razlika statistički nije bila značajna zbog izrazito malog uzorka ($n = 3$) i posljedično niske snage statističke analize. Nadalje, isto istraživanje pokazalo je da dodatak od 10 % BG 45S5 nema negativan učinak na DC. Moguće objašnjenje za izostanak inhibicijskog učinka BG-a na polimerizaciju u tom istraživanju može biti nizak udio punila (10 % težinski) i velike čestice punila (20 μm), što je rezultiralo niskom površinom BG čestica u usporedbi s eksperimentalnim materijalima ispitivanim u ovom radu

(230). U literaturi je dostupno još jedno istraživanje u kojem je površina čestica punila vjerojatno bila premala za mjerljivi učinak polimerizacijske inhibicije kod materijala dobivenog miješanjem komercijalnog adhezijskog sustava s BG modificiranim bizmutom (231). Nadalje, postoje dokazi da inhibicijski učinak može izostati i pri visokim udjelima BG punila: dodatak 20 % bizmutom modificiranog BG-a u nanometarskom rasponu veličine (79) te 40 % niobijem modificiranog BG-a mikrometarskog raspona veličina (232) u različite komercijalne adhezijske sustave nije imao mjerljiv učinak na vrijednosti DC-a zabilježene neposredno nakon osvjetljavanja. Uzevši u obzir rezultate ovog rada i prethodno navedene podatke iz literature, inhibicija polimerizacije posredovana nesilaniziranim česticama BG punila može se pojaviti u određenim uvjetima, međutim uvjetovana je i različitim nedovoljno istraženim čimbenicima. Negativan učinak BG punila na polimerizaciju dentalnih kompozita trebao bi se razjasniti u budućim istraživanjima, posebice u vezi sa sastavom, udjelom i veličinom čestica BG punila, sastavom smolaste matrice te sustavom fotoinicijatora.

Budući da je inhibicijski učinak BG-a ovisio o količini BG-a, kod eksperimentalnih kompozita s težinskim udjelom BG punila do 10 % izmjerene su vrijednosti DC-a veće ili slične onima kod komercijalnog kontrolnog materijala (TEC) pri svim debljinama sloja i za oba vremena osvjetljavanja, dok je kod kompozita s višim udjelima BG punila DC bio niži nego kod komercijalne kontrole (Slika 26). Opisani nalaz sugerira da potencijalni inhibicijski učinak BG punila na polimerizaciju smole treba biti razmotren tijekom optimizacije sastava punila kod eksperimentalnih bioaktivnih kompozita. Nadalje, BG punila mogu smanjiti mehanička svojstva zbog niske kohezivne čvrstoće. Stoga je udio BG punila potrebno svesti na najmanju vrijednost koja je dostatna za zadovoljavajući bioaktivni učinak. Primjerice, prethodno navedeni rezultati precipitacije HA pokazali su da je težinski udio BG punila od 10 % dostatan za bioaktivni učinak.

5.3. Transmitancija svjetlosti

Transmitancija svjetlosti glavna je odrednica učinkovitosti polimerizacije pri debljim kompozitnim slojevima (28), stoga je njezina ovisnost o težinskom udjelu BG-a u eksperimentalnim materijalima ispitana na klinički relevantnoj debljini sloja od 2 mm. Budući da se svjetlosna transmitancija mijenjala tijekom polimerizacije, mjerenja su provedena u stvarnom vremenu tijekom osvjetljavanja, a zasebno su analizirane vrijednosti transmitancije u trima određenim vremenskim točkama (Slika 29): na početku osvjetljavanja, na kraju

osvjetljavanja i tijekom dodatnog osvjetljavanja prethodno polimeriziranog uzorka. Primijenjena su dva različita pristupa za izračunavanje svjetlosne transmitancije: (I) uzevši u obzir cijeli emisijski spektar polimerizacijskog uređaja ili (II) uzevši u obzir samo valnu duljinu od 468 nm pri kojoj se nalazi apsorpcijski maksimum kamforkinona (Slika 31). Prvi pristup temeljen je na širokom apsorpcijskom spektru kamforkinona između 360 i 520 nm (233), što znači da cijeli emisijski spektar polimerizacijskog uređaja (Slika 30) doprinosi aktivaciji kamforkinona. Drugi pristup opravdan je činjenicom da valna duljina od 468 nm daje najveći doprinos aktivaciji polimerizacije jer se poklapa s apsorpcijskim maksimumom kamforkinona. Unatoč malim (ali statistički značajnim) razlikama u rezultatima dobivenim opisanim pristupima, opažene su razlike smatrane nevažnima za glavni obrazac koji je bio neovisan o načinu izračuna svjetlosne transmitancije: početni dodatak BG punila u eksperimentalne materijale značajno je snizio svjetlosnu transmitanciju (razlika između materijala BG-0 i BG-5, Slika 31), dok je daljnje povećanje težinskog udjela BG punila sve do 40 % dovelo do razmjerno malih varijacija bez jasne tendencije.

Vrlo izražen učinak dodatka BG punila u težinskom udjelu od 5 % na svjetlosnu transmitanciju i neproporcionalno malen i nesistematičan učinak daljnjeg povećanja udjela BG-a (Slika 31) ne može se jednostavno objasniti. Uz neznatan doprinos apsorpcije svjetlosti posredstvom fotoinicijatora, svjetlosna transmitancija kompozitnog materijala pretežno je određena raspršenjem svjetlosti (162) koje je kompleksna funkcija raspodjele veličine čestica i razlike između indeksa loma punila i smolaste matrice (163). Vrijednost indeksa loma za silika punila, barijevo staklo i BG punila iznose 1,46, 1,53 i 1,56, dok sastojci smolaste matrice Bis-GMA i TEGDMA imaju indekse loma od 1,55 i 1,46. Stoga su indeksi loma punila i smole bili zadovoljavajuće uravnoteženi, što je potvrđeno vrijednostima svjetlosne transmitancije značajno većima nego kod komercijalnog kompozita sa sličnim udjelom punila (TEC). Učinak udjela BG punila na ukupno raspršenje svjetlosti vjerojatno se ne ponaša prema jednostavnom aditivnom modelu, što se djelomično može objasniti nedostatnom kontrolom veličine čestica punila kod eksperimentalnih kompozita. Naime, najveći intenzitet raspršenja svjetlosti nastupa pri veličini čestica koja iznosi približno polovinu valne duljine upadne svjetlosti, a raspršenje se smanjuje kod većih ili manjih čestica prema asimetričnoj, udesno zakrivljenoj distribuciji (165). Svi eksperimentalni kompozitni materijali sadržavali su visok udio silika punila (Tablica 1) s primarnom veličinom čestica od 12 nm. S obzirom na njihovu ekstremno veliku površinu, nanočestice silika punila pokazuju sklonost aglomeraciji u sekundarne čestice različitih dimenzija (234). Sekundarne čestice dimenzija od oko 0,2 μm

uzrokovale su maksimalno raspršenje polimerizacijske svjetlosti, dok su veće ili manje čestice imale manje izražen učinak. Veličina sekundarnih čestica nije se mogla kontrolirati tijekom pripreme eksperimentalnih kompozita jer su jake smične sile tijekom mehaničkog miješanja vjerojatno usitnile velike aglomerate do čestica različitih dimenzija. Dodatno, razlike u relativnim omjerima ojačavajućih i BG punila u eksperimentalnim kompozitima odredile su njihovu viskoznost koja je pak utjecala na smične sile među česticama tijekom mehaničkog miješanja, a time i na konačnu veličinu aglomerata silika punila. Stoga je vjerojatno da su nepredvidive varijacije u raspodjeli veličine čestica uzrokovale izmjerenu nesistematičnu ovisnost svjetlosne transmitancije o udjelu BG punila.

Svjetlosna transmitancija povećavala se tijekom polimerizacije materijala zbog promjene indeksa loma smolaste matrice i trošenja fotoinicijatora kamforkinona (Slika 29). Stoga su se vrijednosti svjetlosne transmitancije značajno razlikovale između triju vremenskih točaka u kojima su evaluirane (Slika 31). Međutim, prethodno opisan obrazac promjena svjetlosne transmitancije kao funkcije težinskog udjela BG punila bio je dosljedan unutar svake vremenske točke: izrazita razlika opažena je između BG-0 i BG-5, dok su varijacije svjetlosne transmitancije kod ostalih materijala (od BG-5 do BG-40) bile male i nesistematične.

Zanimljivo je spomenuti istraživanje učinkovitosti svjetlosne aktivacije eksperimentalnih bioaktivnih kompozitnih materijala temeljenih na punilima od kalcijeva fosfata u kojem je primijenjen sličan eksperimentalni dizajn kao i u ovom radu (24). U navedenom istraživanju eksperimentalna serija kompozitnih materijala pripremljena je uz ukupni težinski udio punila od 70 % i sistematične varijacije težinskog udjela bioaktivnog punila 0 – 40 %. Učinkovitost svjetlosne aktivacije bila je ispitana u ovisnosti o debljini kompozitnog sloja, mjerenjem DC-a u inkrementima od 1 mm do ukupne debljine sloja od 4 mm. Promjenjivi udjeli bioaktivnih punila od kalcijeva fosfata nisu imali učinak na DC pri debljinama sloja do 2 mm, dok je kod debljih slojeva sniženje učinkovitosti svjetlosne aktivacije polimerizacije bilo izraženije kod kompozita s većim udjelom bioaktivnih punila. Opisano je ponašanje očekivano za punila od kalcijeva fosfata koja ne pokazuju svojstvo vezanja elektrona (zbog nepostojanja oksida), stoga ne mogu izravno inhibirati reakciju polimerizacije. Umjesto izravne inhibicije, punila od kalcijeva fosfata imala su neizravan učinak na učinkovitost polimerizacije na većim dubinama smanjenjem svjetlosne transmitancije (24). Rezultati predstavljeni u ovom radu razlikuju se od citiranog istraživanja jer je dosljedno smanjenje DC-a pri povećanju udjela BG punila opaženo neovisno o debljini sloja (Slika 26) i svjetlosnoj transmitanciji (Slika 31).

Ovakav nalaz upućuje na činjenicu da je postojao izravan inhibicijski učinak BG punila na polimerizaciju smole, koji je bio neovisan o svjetlosnoj transmitanciji.

5.4. Dubina polimerizacije prema ISO 4049

Dubina polimerizacije definirana je na dva načina: (I) kao debljina sloja na kojoj vrijednosti DC-a iznose 80 % od maksimalno ostvarivog DC-a (123) ili (II) kao polovica duljine stvrdnutog cilindričnog uzorka u skladu s metodom ISO 4049 (192). Prvo je izravna spektroskopska metoda, a drugo je neizravan, jednostavan i ekonomičan mehanički test; međutim nijedna od navedenih metoda nema čvrste niti fizikalne niti kliničke temelje. Općenito, kod svih metoda za određivanje dubine polimerizacije, kriteriji zadovoljavajuće polimerizacije određeni su proizvoljno (235). Svejedno, u nedostatku bolje alternative, testovi debljine polimerizacije i dalje se učestalo primjenjuju.

Budući da su dva načina određivanja debljine polimerizacije temeljena na različitim svojstvima materijala, velike nepodudarnosti u vrijednostima debljine polimerizacije između dviju metoda (Slika 32) bile su očekivane. Metoda 80 % DC-a pokazala je veću diskriminatornu snagu (236), dok metoda prema ISO 4049 nije mogla razlikovati materijale s težinskim udjelima BG-a većim od 10 %. Metoda prema ISO 4049 također se pokazala vrlo neosjetljivom na vrijeme osvjetljavanja: vrlo male razlike od oko 0,2 mm zabilježene su kod BG kompozita između vremena osvjetljavanja od 20 i 40 s (Tablica 5, Slika 32), dok je metodom 80 % DC-a zabilježen porast dubine polimerizacije 0,7 - 1,3 mm u slučaju dužeg vremena osvjetljavanja (Slika 32). Krivulje ovisnosti dubine polimerizacije o udjelu BG punila dobivene dvjema metodama presijecaju se pri određenim težinskim udjelima BG-a (10 % za vrijeme osvjetljavanja od 20 s, odnosno 25 % za vrijeme osvjetljavanja od 40 s) pri kojima obje metode daju jednake rezultate (Slika 32). Lijevo od točke sjecišta, metoda prema ISO 4049 podcijenila je dubinu polimerizacije u usporedbi s metodom 80 % DC-a, dok je s desne strane sjecišta obrnuto. S porastom udaljenosti od sjecišta ulijevo ili udesno povećava se neslaganje između dviju metoda za određivanje dubine polimerizacije. Kod komercijalnog kompozita (TEC) metoda prema ISO 4049 podcijenila je dubinu polimerizacije u usporedbi s metodom 80 % DC-a na sličan način kao kod BG kompozita s niskim udjelima BG-a.

U svakom slučaju, metoda prema ISO 4049 pokazala je dubine polimerizacije veće od propisanih 2 mm kod svih eksperimentalnih materijala i za oba vremena osvjetljavanja, dok je

metoda 80 % DC-a pokazala dubinu polimerizacije nižu od 2 mm samo kod materijala BG-20 i BG-40 uz osvjetljavanje od 20 s.

Zaključno, kod eksperimentalnih kompozitnih materijala s BG punilima izmjeren je klinički prihvatljiv potencijal za svjetlosno aktiviranu polimerizaciju. Nesilanizirane čestice BG punila pokazale su sklonost smanjenju maksimalnog ostvarivog DC-a te slabiju učinkovitost polimerizacije pri slojevima veće debljine. Navedeni inhibicijski učinak bio je ovisan o udjelu BG punila i neovisan o svjetlosnoj transmitanciji materijala te je najvjerojatnije povezan s potencijalom oksida na površini čestica BG punila za inaktivaciju slobodnih radikala i terminaciju polimerizacijske reakcije. Negativan učinak BG punila na polimerizaciju eksperimentalnih dentalnih kompozita nije prethodno opisan u literaturi, stoga su potrebna dodatna istraživanja kako bi se potvrdio i temeljitije ispitao opisani nalaz.

5.5. Porast temperature tijekom polimerizacije

Za mjerenja porasta temperature pripremljeni su cilindrični uzorci visine 2 mm kako bi se simulirala standardna debljina kompozitnog sloja u kliničkom radu. Budući da toplina oslobođena tijekom polimerizacije ovisi o količini kompozita (146), dimenzije uzoraka za temperaturna mjerenja odabrane su tako da predstavljaju volumen materijala uobičajen kod postavljanja ispuna u opsežnim preparacijama na stražnjim zubima. Vrijeme osvjetljavanja od 30 s dulje je od uobičajeno preporučenih vremena osvjetljavanja kod komercijalnih kompozita, koja se kreću između 10 i 20 s za polimerizacijske uređaje visokog intenziteta poput Bluephase G2 (237). Produženo vrijeme osvjetljavanja odabrano je kako bi se dobio bolji uvid u temperaturne krivulje tijekom polimerizacije i kako bi se obuhvatile vršne vrijednosti porasta temperature kod svih materijala (Slika 35).

Pristup koji uključuje dva sukcesivna osvjetljavanja (Slika 33) proveden je u skladu s prethodnim istraživanjem u kojem se pokazao korisnim za odvajanje doprinosa zagrijavanja zbog osvjetljavanja polimerizacijskim uređajem i egzotermne reakcije (123). Statistička analiza pokazala je da su razlike u temperaturnom porastu između pojedinih materijala najvećim dijelom posljedica egzotermne reakcije, dok je učinak zagrijavanja polimerizacijskim uređajem bio sličan kod svih kompozita zbog sličnog toplinskog kapaciteta (Slika 34). Stoga sklonost maksimalnih vrijednosti temperature tijekom osvjetljavanja (T_1) prema snižavanju s povećanjem težinskog udjela BG punila odražava sličan obrazac opažen

kod T_{reakcije} . Učinak različitih udjela BG punila pokazao je više statistički značajnih razlika za parametar T_{reakcije} u usporedbi s parametrom T_1 zbog manje varijabilnosti podataka kod prvog parametra. U svakom slučaju, udio BG punila pokazao je značajan učinak na porast temperature tijekom polimerizacije. Budući da su svi eksperimentalni kompoziti sadržavali slične volumne udjele smolaste matrice (48 – 52 %) i stoga slične količine dvostrukih C=C veza raspoloživih za konverziju u jednostruke veze, opaženi učinak može se objasniti sklonošću kompozitnih materijala s većim udjelima BG punila prema ostvarivanju nižih maksimalnih vrijednosti DC-a. Navedeni učinak prethodno je opisan i smatra se posljedicom inhibicije polimerizacije posredovane slobodnim radikalima s pomoću oksida na površini BG punila (227).

Iako je poznato da prekomjerni toplinski podražaji mogu imati štetan učinak na zubnu pulpu, kritične vrijednosti temperaturnog porasta koje bi ukazivale na mogućnost ireverzibilnih oštećenja nisu definirane (123). Stoga je jedini način za procjenu potencijalnog oštećenja zubne pulpe zagrijavanjem tijekom svjetlosne aktivacije polimerizacije eksperimentalnih kompozita bila usporedba s vrijednostima temperaturnog porasta komercijalnih materijala koji se dugi niz godina uspješno koriste u kliničkoj praksi i za koje je potvrđeno da su sigurni za zubnu pulpu ako se njima ispravno rukuje (40). Stoga su porasti temperature kod komercijalnih materijala TEC, TEF i Gradia poslužili kao referentne vrijednosti za eksperimentalne kompozite (Slika 34).

Visokoviskozni (čvrsti) komercijalni kompoziti TEC i Gradia pokazali su slične vrijednosti temperaturnog porasta tijekom osvjetljavanja, koje su bile statistički značajno niže nego kod niskoviskoznog (tekućeg) kompozita (Slika 34). Navedena razlika može se pripisati većem udjelu smolaste komponente kod tekućeg materijala, što je rezultiralo većom količinom dvostrukih C=C veza raspoloživih za egzotermnu reakciju polimerizacije. Takvo objašnjenje podupire i nalaz vrijednosti T_{reakcije} koje su kod materijala TEF bile dvostruko više nego kod materijala TEC i Gradia. Eksperimentalni kompoziti BG-20 i BG-40 pokazali su vrijednosti temperaturnog porasta tijekom osvjetljavanja usporedive s referentnim vrijednostima izmjerenim kod tekućeg komercijalnog kompozita (TEF), dok su eksperimentalni kompoziti s nižim udjelima BG punila dosegili vrijednosti temperature koje su bile do 1,8 °C više od referentnih vrijednosti. Iako je navedena razlika bila statistički značajna, klinički je značaj dobivenih rezultata upitan. Potrebno je napomenuti da su značajno veće vrijednosti temperaturnog porasta u rasponu 6,6 – 14,1 °C (238) i 5,8 – 14,0 °C (172) bile izmjerene u istraživanjima komercijalnih kompozita uz primjenu sličnog eksperimentalnog postava kao i u

ovom radu. Nadalje, ekstremno veće vrijednosti temperaturnog porasta (do 43 °C) izmjerene su kod komercijalnih kompozita uporabom skenirajućeg infracrvenog sustava (239). Stoga se u kontekstu podataka iz literature može zaključiti da je porast temperature tijekom svjetlosno aktivirane polimerizacije eksperimentalnih BG kompozita bio unutar raspona vrijednosti koje su izmjerene kod komercijalnih kompozita.

Iz temperaturnih krivulja snimljenih tijekom polimerizacije u stvarnom vremenu može se dobiti informacija o dinamici porasta temperature unutar uzorka. Kod eksperimentalnih kompozitnih materijala opaženi su različiti oblici temperaturnih krivulja čije su vršne vrijednosti postajale sve šire i pomicala su se prema kasnijim vremenima s porastom udjela BG punila (Slika 35). Takav rezultat ukazivao je na sporiji i postupniji porast temperature kod kompozita s većim udjelima BG punila. Kako bi se navedene razlike kvantificirale, određeno je vrijeme vršnih vrijednosti temperaturnog porasta, a rezultati su prikazani na Slici 36. Vidljivo je da se vrijeme vršnih vrijednosti temperature značajno produžuje kod kompozita s višim udjelima BG punila. Oblik temperaturne krivulje kod tekućeg komercijalnog kompozita (TEF) bio je sličan obliku kod eksperimentalnih kompozita, dok kod čvrstih komercijalnih kompozita (TEC i Gradia) nije zabilježena vršna vrijednost temperaturnog porasta, već samo kontinuirani porast tijekom čitavog perioda osvjetljavanja (Slika 35). Navedena se razlika može objasniti činjenicom da su čvrsti kompoziti (TEC i Gradia) imali najniže vrijednosti T_{reakcije} od svih ispitanih materijala, što je dovelo do prikrivanja toplinskog učinka egzotermne reakcije mnogo izraženijim zagrijavanjem polimerizacijskim uređajem. Stoga u temperaturnim krivuljama navedenih materijala nije bila vidljiva izdvojena vršna vrijednost.

Temeljem opaženog sistematskog utjecaja udjela BG punila na temperaturni porast zbog egzotermne reakcije i vrijeme vršne vrijednosti temperaturnog porasta (Slika 34 i 36), ovisnost je analizirana Pearsonovom analizom korelacije (Slika 37). Nalaz jake i statistički značajne korelacije udjela BG punila s obama parametrima ukazuje na mogući učinak BG-a na kinetiku polimerizacije smolaste matrice. Negativna korelacija između udjela BG punila i T_{reakcije} može se povezati s prethodno opisanim učinkom BG punila na DC. Pozitivna korelacija vremena vršne vrijednosti temperature i udjela BG punila ukazuje na činjenicu kako kompoziti s većim udjelima BG punila ne razvijaju samo manju količinu topline nego i sporije dosežu maksimalne vrijednosti temperaturnog porasta, što omogućava više vremena za disipaciju topline.

Zaključno, eksperimentalni kompoziti s visokim težinskim udjelima BG punila (20 i 40 %) pokazali su porast temperature sličan komercijalnim kompozitima. Više vrijednosti porasta temperature tijekom osvjetljavanja izmjerene su kod eksperimentalnih materijala s nižim težinskim udjelima BG punila (0 – 10 %), ali su i navedene vrijednosti bile unutar raspona temperaturnog porasta izmjerenog kod komercijalnih kompozita u prethodnim istraživanjima. Stoga se može pretpostaviti kako će zubna pulpa tolerirati porast temperature tijekom svjetlosne polimerizacije BG kompozita. Povećavanje udjela BG-a u eksperimentalnim kompozitima dovelo je do smanjenja temperaturnog porasta tijekom svjetlosno aktivirane polimerizacije i povećanja vremena pri kojem temperaturni porast postiže maksimalnu vrijednost, ukazujući na sistematski učinak udjela BG punila na kinetiku polimerizacije.

5.6. Apsorpcija vode i solubilnost

Svojstva apsorpcije vode i solubilnosti izmjerena su u skladu s modificiranom gravimetrijskom metodom prema ISO 4049. Gravimetrija je najjednostavnija metoda za kvantifikaciju upijanja vode i otpuštanja topljivih sastojaka iz polimeriziranih kompozitnih uzoraka tijekom imerzije u vodi (192). Iako je kritizirana zbog svoje nedostatne osjetljivosti (188), gravimetrija može biti korisna kod istraživanja izrazito hidrofilnih bioaktivnih kompozita s obzirom na to da joj se diskriminatorna snaga povećava s višim vrijednostima apsorpcije vode i solubilnosti.

Kompozitni uzorci upijaju vodu u difuzijom kontroliranom procesu koji traje sve do potpunog zasićenja materijala vodom (184). Istovremeno s upijanjem vode odvija se otpuštanje topljivih sastojaka iz uzorka polimeriziranog kompozita. Na krivuljama koje predstavljaju porast mase kao funkciju vremena imerzije, gubitak mase uobičajeno je prikriven porastom mase zbog upijanja vode koje je znatno izraženije od solubilnosti (201). Opisano ponašanje često se opaža kod komercijalnih kompozita (61), a kod eksperimentalnih kompozita pojavilo se kod materijala BG-0 i BG-5 (Slika 38). Drukčije ponašanje opaženo je kod izrazito topljivih materijala BG-10, BG-20 i BG-40, čije su krivulje promjena mase dosegnule maksimalnu vrijednost, nakon čega je uslijedio gubitak mase približavajući se ravnotežnom stanju pri masi značajno nižoj od početne. U opisanim krivuljama učinak solubilnosti prevladavao je nad učinkom apsorpcije vode. Sličan obrazac smanjenja mase uzoraka tijekom imerzije u vodi opažen je u istraživanju samoadhezivnog kompozitnog materijala i objašnjen je otpuštanjem zaostalog monomera zbog visoke hidrofilnosti smolaste matrice i niskog omjera punila i

smole (61). Visoka solubilnost izmjerena kod eksperimentalnih materijala BG-10, BG-20 i BG-40 u ovom radu ne može se pripisati otpuštanju zaostalog monomera s obzirom na to da niti eksperimentalni materijali s nižim udjelima BG punila (BG-0 i BG-5) niti čista smola nisu pokazali usporedivo smanjenje mase tijekom imerzije. Stoga se izrazita solubilnost BG-10, BG-20 i BG-40 može objasniti dugoročnim otpuštanjem iona iz bioaktivnih punila. Očekivano, solubilnost je rasla s većim udjelom BG punila koji je osiguravao veću zalihu remineralizacijskih iona, a istovremeno i veći potencijal za difuziju zbog veće hidrofilnosti materijala.

Krivulje gubitka mase kod materijala BG-10, BG-20 i BG-40 ukazuju na dugoročno otpuštanje remineralizacijskih iona, koje je povoljno u usporedbi s eksperimentalnim kompozitima temeljenim na kalcijevim fosfatima čije je otpuštanje iona ograničeno na nekoliko mjeseci (82). S druge strane, izrazit gubitak mase koji nastupa tijekom dužeg razdoblja može biti uzrok slabljenju mehaničkih svojstava i gubitka integriteta restauracije (137).

Upijanje vode kod konvencionalnih kompozitnih materijala odvija se prvenstveno unutar metakrilatne mreže jer silanizirane čestice punila imaju razmjerno slab afinitet za vodu (240). Stoga se količina apsorbirane vode smanjuje s porastom udjela anorganskog punila, kao posljedica smanjenja udjela apsorbirajuće smolaste komponente (188). Navedeno se ne odnosi na bioaktivne kompozitne materijale s veoma hidrofilnim punilima koja mogu povećati apsorpciju vode u usporedbi s čistom smolom, kao što je vidljivo usporedbom vrijednosti izmjerenih kod eksperimentalnih kompozita na Slici 40. Doprinos bioaktivnih punila apsorpciji vode kod kompozitnog materijala ovisi o relativnim hidrofilnim svojstvima topljivog punila i čiste smole. Varijacije udjela BG punila u eksperimentalnoj kompozitnoj seriji pokazuju izrazit učinak na apsorpciju vode: kod materijala BG-40 izmjerene su šesterostruko veće vrijednosti nego kod materijala BG-0.

Uz difuziju kroz polimernu mrežu, apsorpcija vode može se odvijati i tečenjem uzduž međugraničnog prostora između čestica punila i smole (241). U konvencionalnim kompozitima navedeno se događa kao posljedica hidrolitičke degradacije siloksanskih veza (242), dok kod bioaktivnih kompozita s visokim udjelom nesilaniziranih punila opisani put kretanja vode postoji od početka imerzije (243, 244). S napretkom apsorpcije vode nastaju mikropukotine na spojevima između čestica punila i smolaste matrice, što pojačava daljnje upijanje vode i degradaciju kompozitne strukture (245).

Solubilnost izmjerena prema metodi ISO 4049 kod konvencionalnih kompozita odražava otpuštanje različitih topljivih sastojaka kompozitnih materijala. Gotovo svaki sastojak (punila, monomeri, sustav fotoinicijatora, aditivi) može biti otpušten iz polimeriziranog kompozita (138, 242), ali količinski najveći dio solubilnosti odnosi se na zaostatni monomer i topljive aditive, dok anorgansko punilo daje zanemariv doprinos sveukupnoj solubilnosti (138). S druge strane, kod eksperimentalnih kompozita ispitanih u ovom radu, najveći dio otpuštenih sastojaka potječe iz čestica punila. Navedeno je vidljivo usporedbom podataka o solubilnosti čiste smole, odnosno kontrolnog materijala BG-0, s vrijednostima izmjerenim kod kompozita s različitim težinskim udjelima BG punila (Slika 40). Kompoziti koji su sadržavali BG punila pokazali su do 500 puta veće vrijednosti solubilnosti u usporedbi s kontrolnim materijalom BG-0.

Vrijednosti solubilnosti izmjerene kod kontrolnog kompozita BG-0 i čiste smole odražavaju otpuštanje zaostatnog monomera, stoga se na njih mogu primijeniti kriteriji propisani u ISO 4049. Izmjerene vrijednosti solubilnosti bile su niže od $1 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, što ukazuje na prihvatljivu biokompatibilnost Bis-GMA/TEGDMA smolaste matrice na kojoj su temeljeni eksperimentalni kompoziti.

Značajno veće vrijednosti solubilnosti izmjerene su kod eksperimentalnih kompozita s težinskim udjelima BG-a od 10 % i više ($175 - 506 \mu\text{g}/\text{mm}^3$). Kod tih materijala povećanje udjela BG punila povećalo je solubilnost dvama mehanizmima: (I) olakšanjem difuzije vode kroz kompozit, kao što je ranije opisano, i (II) povećanjem ukupne količine reaktivnog stakla dostupnog za otapanje. Zanimljivo je da je kod materijala BG-0 i BG-5 izmjerena statistički slična solubilnost, dok je kod materijala BG-10 solubilnost bila veća za čak dva reda veličine. Moguće je nagađati da postoji određeni minimalni težinski udio BG punila (između 5 i 10 %) koji je potreban kako bi se postigla dostatna difuzija vode za otpuštanje topljivih sastojaka.

Uvjeti svjetlosne aktivacije polimerizacije uzoraka za mjerenja apsorpcije vode i solubilnosti bili su prilagođeni postizanju maksimalnih ostvarivih vrijednosti DC-a za pojedini materijal. Kako su se vrijednosti DC-a u seriji eksperimentalnih kompozita sustavno smanjivale s porastom težinskog udjela BG punila (Slika 26), ovisnost apsorpcije vode i solubilnosti o udjelu BG punila može se djelomično pripisati inhibicijskom učinku BG-a na maksimalni DC kod pojedinog materijala.

Zbog precipitacije HA na površini eksperimentalnih kompozita tijekom imerzije u vodi, moguće je da dio apsorbirane vode nije uklonjen tijekom pohrane uzoraka u eksikatoru jer je

ostao vezan za HA, za površinu čestica punila (194) ili unutar metakrilatne mreže (61). Nemogućnost uklanjanja vode sušenjem u eksikatoru uzrok je pojave tzv. negativne solubilnosti (183) koja je opažena kod komercijalnog kompozita TEC u iznosu od $-4,4 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ (Slika 40). Stoga je moguće da su stvarne vrijednosti solubilnosti kod eksperimentalnih kompozita bile veće nego što je izmjereno, s obzirom na to da je neuklonjena voda mogla djelomično prikriti gubitak mase pri sušenju.

Razvoj eksperimentalnih bioaktivnih kompozita uvijek uključuje kompromise između suprotstavljenih svojstava. Određena razina hidrofilnosti nužan je preduvjet za bioaktivnost, koja se pak ostvaruje pod cijenu ubrzane degradacije mehaničkih svojstava (245) i dimenzijske nestabilnosti (188). Poznato je da svi konvencionalni kompoziti pokazuju određeni stupanj degradacije mehaničkih svojstava izlaganjem vodenom mediju (137), a može se očekivati da će navedeni proces biti još izraženiji kod bioaktivnih kompozita kojima su već i početna mehanička svojstva slabija nego kod konvencionalnih kompozita (25, 75).

Mogući pozitivan učinak povećane apsorpcije vode izmjerene kod eksperimentalnih kompozita odnosi se na ekspanziju volumena koja može smanjiti napetosti između restauracije i zida kaviteta, a koje nastaju zbog polimerizacijskog skupljanja. Ovisno o količini apsorbirane vode, napetost može biti djelomično ili potpuno kompenzirana (246) ili pak premašena, čime se postiže neto ekspanzija (247). Kod komercijalnih kompozita apsorpcija vode uglavnom je nedostatna ili prespora da bi zamjetno smanjila negativne učinke polimerizacijskog skupljanja (137). S druge strane, apsorpcija vode kod bioaktivnih kompozita može se prilagoditi promjenama sastava punila i smolaste matrice kako bi se ekspanzija uskladila s iznosom polimerizacijskog skupljanja. Higroskopska ekspanzija u teoriji može djelovati zajedno s otpuštanjem iona i precipitacijom HA u marginalnoj pukotini s ciljem sprečavanja sekundarnog karijesa.

Zaključno, kod eksperimentalnih kompozita s različitim udjelima BG punila vrijednosti apsorpcije vode i solubilnosti bile su značajno više od referentnih vrijednosti propisanih prema standardu ISO 4049. Praćenje promjena mase tijekom imerzije u vodi tijekom 287 dana ukazalo je na dugoročno otpuštanje iona kod eksperimentalnih kompozita s težinskim udjelom punila od 10 % i više. U budućim istraživanjima bioaktivnih kompozita bit će važno razmotriti učinak različitih formulacija na apsorpciju vode i solubilnost kako bi se postigla optimalna bioaktivnost i umanjili potencijalni neželjeni učinci na ostala svojstva.

5.7. Buduća istraživanja

Rezultati ovog istraživanja ukazuju na potencijalnu primjenjivost kompozitnih materijala temeljenih na BG punilima. Međutim, provedena testiranja obuhvatila su samo dio klinički relevantnih svojstava, a za potpunu karakterizaciju eksperimentalnih materijala potrebno je ispitati i niz drugih važnih svojstava. U nastavku je opisano nekoliko ispitivanja koja se predlažu za buduća istraživanja.

Mehanička svojstva

Poznato je da se degradacijom konvencionalnih kompozitnih materijala u vodenom mediju oslabljuju njihova mehanička svojstva (248). Očekuje se da će navedena pojava biti izraženija kod bioaktivnih kompozita koji su hidrofilniji i sadržavaju određeni udio nesilaniziranog topljivog punila (249). U literaturi se općenito navodi negativan učinak bioaktivnih punila na mehanička svojstva i njihovu otpornost na degradaciju (24, 78, 250). Stoga se očekuje da će mehanička svojstva slabjeti s porastom težinskog udjela BG punila u eksperimentalnoj seriji. Također, očekuje se da će degradacija mehaničkih svojstava tijekom starenja u vodenom mediju biti izraženija kod materijala s većim udjelom BG punila. Nadalje, pretpostavlja se da bi na slabljenje mehaničkih svojstava mogla utjecati pH-vrijednost medija zbog učinka na topljivost bioaktivnih punila. Uobičajeni pokazatelji mehaničkih svojstava kod dentalnih kompozita svojna su čvrstoća i modul elastičnosti (251) te mikrotvrdoća (252).

Snaga svezivanja na dentin

Pretpostavljeni učinak BG punila na snagu svezivanja je dvojak. Prisutnost nesilaniziranih punila može smanjiti snagu sveze zbog općenitog negativnog učinka na mehanička svojstva (84). S druge strane, precipitacija HA unutar hibridnog sloja može zaštititi kolagenu mrežu od hidrolitičke degradacije i poboljšati postojanost svezivanja kompozitnog materijala na dentin (111-113). Stoga je potrebno evaluirati učinak udjela BG punila na snagu svezivanja eksperimentalnih kompozitnih materijala na zubna tkiva posredstvom komercijalnih adhezijskih sustava.

Kinetika polimerizacijske reakcije

Izmjerene vrijednosti DC-a ukazuju na mogući inhibicijski učinak BG punila na polimerizacijsku reakciju, a prema krivuljama temperaturnog porasta tijekom polimerizacije postoje naznake sporije reakcije kod materijala s većim udjelima BG punila. Mjerenja DC-a u stvarnom vremenu tijekom svjetlosno aktivirane polimerizacije s pomoću ATR-FTIR spektroskopije (55) omogućila bi bolji uvid u kinetiku reakcije i bolje objašnjenje pretpostavljenog inhibicijskog učinka BG-a na polimerizaciju.

Otpuštanje iona i remineralizacija tvrdih zubnih tkiva

U ovom je istraživanju za potvrdu bioaktivnosti eksperimentalnih kompozita evaluirana precipitacija HA u PBS-u. Kako bi se utvrdio stvarni potencijal za ugradnju otpuštenih iona u tvrda zubna tkiva, potrebno je materijale inkubirati s demineraliziranim uzorcima cakline ili dentina i promatrati promjene u mineralnom sastavu (107). Uzorci tvrdih zubnih tkiva s modelima restauracija izrađenih od bioaktivnih kompozitnih materijala mogu se izložiti simuliranim kariogenim uvjetima u ustima zdravih dobrovoljaca (253) i potom kvantificirati promjene u mineralnom sastavu (254).

6. ZAKLJUČCI

U okviru ovog *in vitro* istraživanja svojstava eksperimentalnih kompozitnih materijala s težinskim udjelom BG punila u rasponu 0 – 40 % moguće je zaključiti sljedeće:

1. Na površini BG kompozita precipitira se sloj HA tijekom izlaganja PBS-u, pri čemu je debljina i morfologija precipitata ovisna o udjelu BG punila u materijalu;
2. Prema kemijskom sastavu, precipitat formiran na površini BG kompozita nakon imerzije u PBS-u pripadao je skupini kalcijem deficitarnih HA;
3. Kod BG kompozita izmjeren je klinički prihvatljiv DC koji je bio u rasponu komercijalnih kompozita;
4. Pri osvjetljavanju od 20 s svi BG kompoziti postigli su dubinu polimerizacije veću od 2 mm, koliko je propisano standardom za konvencionalne kompozite ISO 4049;
5. Prisutnost BG punila u eksperimentalnim kompozitima smanjila je maksimalni ostvarivi DC i uzrokovala strmiji pad DC-a s porastom dubine. Opisani učinak nije bio povezan s djelovanjem BG punila na svjetlosnu transmitanciju, nego s pretpostavljenom izravnom inhibicijom polimerizacijske reakcije posredovane slobodnim radikalima;
6. Dodatak BG punila pri težinskom udjelu od 5 % doveo je do značajnog smanjenja svjetlosne transmitancije u usporedbi s materijalom koji je sadržavao samo ojačavajuća punila. Daljnje povećanje težinskog udjela BG punila do 40 % imalo je relativno malen učinak na svjetlosnu transmitanciju;
7. Određivanje dubine polimerizacije prema metodi ISO 4049 i prema kriteriju od 80 % maksimalne vrijednosti DC-a dalo je veoma različite rezultate. Razlike u nepodudarnosti izrazito su se razlikovale između materijala;
8. Metoda određivanja dubine polimerizacije prema kriteriju od 80 % maksimalne vrijednosti DC-a pokazala je značajno bolju diskriminatornu snagu od metode prema ISO 4049;

9. Porast temperature tijekom svjetlosno aktivirane polimerizacije BG kompozita bio je usporediv ili nešto viši od porasta temperature izmjerenog kod komercijalnih kontrolnih materijala. U usporedbi s podacima iz literature, porast temperature BG kompozita nalazi se unutar raspona vrijednosti komercijalnih kompozita;
10. Povećanje težinskog udjela BG punila u eksperimentalnim kompozitima rezultiralo je nižim porastima temperature, što se može povezati s nižim vrijednostima DC-a;
11. Povećanje težinskog udjela BG punila u eksperimentalnim kompozitima dovelo je do kasnijeg postizanja temperaturnog maksimuma, što ukazuje na učinak BG punila na kinetiku polimerizacijske reakcije;
12. Apsorpcija vode i solubilnost kod eksperimentalnih BG kompozita bile su značajno veće od referentnih vrijednosti propisanih standardom ISO 4049. Navedene referentne vrijednosti primjenjive su samo za konvencionalne kompozite koji ne otpuštaju remineralizirajuće ione;
13. Vrijednosti apsorpcije vode i solubilnosti kod eksperimentalnih kompozita rasle su s porastom težinskog udjela BG punila;
14. Kontinuirani gubitak mase tijekom 287 dana imerzije u vodi izmjeren kod eksperimentalnih kompozita s težinskim udjelom BG-a od 10 % i više ukazuje na dugoročni remineralizacijski potencijal.

7. LITERATURA

1. Miletic V. Development of Dental Composites. In: Miletic V, editor. Dental Composite Materials for Direct Restorations: Springer International; 2018. p. 3-9.
2. Ferracane JL. Current Trends in Dental Composites. Crit Rev Oral Biol Med. 2016;6(4):302-18.
3. Ferracane JL. Resin composite - state of the art. Dent Mater. 2011;27(1):29-38.
4. Miletic V. Dental Composite Materials for Direct Restorations: Springer International; 2018.
5. Randolph LD, Palin WM, Leprince JG. Composition of Dental Resin-Based Composites for Direct Restorations. In: Miletic V, editor. Dental Composite Materials for Direct Restorations: Springer International; 2018. p. 11-24.
6. Peutzfeldt A. Resin composites in dentistry: the monomer systems. Eur J Oral Sci. 1997;105(2):97-116.
7. Lee JH, Um CM, Lee IB. Rheological properties of resin composites according to variations in monomer and filler composition. Dent Mater. 2006;22(6):515-26.
8. Ilie N, Rencz A, Hickel R. Investigations towards nano-hybrid resin-based composites. Clin Oral Investig. 2013;17(1):185-93.
9. Trujillo-Lemon M, Ge J, Lu H, et al. Dimethacrylate derivatives of dimer acid. J Polym Sci A Polym Chem. 2006;44(12):3921-29.
10. Cramer NB, Stansbury JW, Bowman CN. Recent advances and developments in composite dental restorative materials. J Dent Res. 2011;90(4):402-16.
11. Kumar N, Khoso NA, Sangi L. Dental Resin-based Composites: A Transition from Macrofilled to Nanofilled. J Pak Dent Assoc. 2012;21(1):39-44.
12. Condon JR, Ferracane JL. Factors effecting dental composite wear in vitro. J Biomed Mater Res. 1997;38(4):303-13.
13. Ilie N, Hickel R. Investigations on mechanical behaviour of dental composites. Clin Oral Investig. 2009;13(4):427-38.
14. Ilie N, Hickel R. Resin composite restorative materials. Aust Dent J. 2011;56 Suppl 1:59-66.
15. Randolph LD, Palin WM, Leprince JG. Developing a More Appropriate Classification System for Modern Resin-Based Composite Technologies. In: Miletic V, editor. Dental Composite Materials for Direct Restorations: Springer International; 2018. p. 89-96.
16. Chen MH. Update on dental nanocomposites. J Dent Res. 2010;89(6):549-60.

17. Antonucci JM, Dickens SH, Fowler BO, et al. Chemistry of Silanes: Interfaces in Dental Polymers and Composites. *J Res Natl Inst Stand Technol.* 2005;110(5):541-58.
18. Craig RG, Dooth ER. Effect of mixed silanes on the hydrolytic stability of composites. *J Oral Rehabil.* 1996;23(11):751-6.
19. Drummond JL. Degradation, Fatigue, and Failure of Resin Dental Composite Materials. *J Dent Res.* 2008;87(8):710-9.
20. Palin WM, Fleming GJ, Burke FJ, et al. The influence of short and medium-term water immersion on the hydrolytic stability of novel low-shrink dental composites. *Dent Mater.* 2005;21(9):852-63.
21. Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, et al. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *J Biomed Mater Res.* 1998;41(3):474-80.
22. Barszczewska-Rybarek IM. Structure-property relationships in dimethacrylate networks based on Bis-GMA, UDMA and TEGDMA. *Dent Mater.* 2009;25(9):1082-89.
23. Fugolin APP, Bacchi A, Pfeifer CS. Curing Reaction and Kinetics. In: Miletic V, editor. *Dental Composite Materials for Direct Restorations: Springer International*; 2018. p. 27-42.
24. Aljabo A, Xia W, Liaqat S, et al. Conversion, shrinkage, water sorption, flexural strength and modulus of re-mineralizing dental composites. *Dent Mater.* 2015;31(11):1279-89.
25. Marovic D, Tarle Z, Hiller KA, et al. Reinforcement of experimental composite materials based on amorphous calcium phosphate with inert fillers. *Dent Mater.* 2014;30(9):1052-60.
26. Par M, Gamulin O, Marovic D, et al. Raman spectroscopic assessment of degree of conversion of bulk-fill resin composites--changes at 24 hours post cure. *Oper Dent.* 2015;40(3):E92-101.
27. Al-Qudah AA, Mitchell CA, Biagioni PA, et al. Effect of composite shade, increment thickness and curing light on temperature rise during photocuring. *J Dent.* 2007;35(3):238-45.
28. Bucuta S, Ilie N. Light transmittance and micro-mechanical properties of bulk fill vs. conventional resin based composites. *Clin Oral Investig.* 2014;18(8):1991-2000.
29. Hyun HK, Salehi S, Ferracane JL. Biofilm formation affects surface properties of novel bioactive glass-containing composites. *Dent Mater.* 2015;31(12):1599-1608.

30. D'Alpino PHP, da Rocha Svizero N, Carrilho M. Self-Adhering Composites. In: Miletic V, editor. *Dental Composite Materials for Direct Restorations*: Springer International; 2018. p. 129-151.
31. Andrzejewska E. Photopolymerization kinetics of multifunctional monomers. *Prog Polym Sci*. 2001;26(4):605-65.
32. Stansbury JW. Curing dental resins and composites by photopolymerization. *J Esthet Dent*. 2000;12(6):300-8.
33. Tay FR, Pashley DH, Yiu CK, et al. Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adhesives and chemically-cured or dual-cured composites. Part I. Single-step self-etching adhesive. *J Adhes Dent*. 2003;5(1):27-40.
34. Souza E. Clinical Application of Dental Composites for Direct Restorations. In: Miletic V, editor. *Dental Composite Materials for Direct Restorations*: Springer International; 2018. p. 305-319.
35. Piwowarczyk A, Bender R, Ottl P, et al. Long-term bond between dual-polymerizing cementing agents and human hard dental tissue. *Dent Mater*. 2007;23(2):211-7.
36. Ogden AR. Porosity in composite resins--an Achilles' heel? *J Dent*. 1985;13(4):331-40.
37. Jakubiak J, Allonas X, Fouassier JP, et al. Camphorquinone–amines photoinitiating systems for the initiation of free radical polymerization. *Polymer*. 2003;44(18):5219-26.
38. Santini A, Miletic V, Swift MD, et al. Degree of conversion and microhardness of TPO-containing resin-based composites cured by polywave and monowave LED units. *J Dent*. 2012;40(7):577-84.
39. Brandt WC, Silva CG, Frollini E, et al. Dynamic mechanical thermal analysis of composite resins with CQ and PPD as photo-initiators photoactivated by QTH and LED units. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2013;24:21-9.
40. Price RB. The Dental Curing Light. In: Miletic V, editor. *Dental Composite Materials for Direct Restorations*: Springer International; 2018. p. 43-62.
41. Sim JS, Seol HJ, Park JK, et al. Interaction of LED light with coinitiator-containing composite resins: effect of dual peaks. *J Dent*. 2012;40(10):836-42.
42. Ilie N. Comparative Effect of Self- or Dual-Curing on Polymerization Kinetics and Mechanical Properties in a Novel, Dental-Resin-Based Composite with Alkaline Filler. *Materials*. 2018;11(1):108-20.

43. Salerno M, Derchi G, Thorat S, et al. Surface morphology and mechanical properties of new-generation flowable resin composites for dental restoration. *Dent Mater.* 2011;27(12):1221-28.
44. Tarle Z, Attin T, Marovic D, et al. Influence of irradiation time on subsurface degree of conversion and microhardness of high-viscosity bulk-fill resin composites. *Clin Oral Investig.* 2015;19(4):831-40.
45. Garcia D, Yaman P, Dennison J, et al. Polymerization shrinkage and depth of cure of bulk fill flowable composite resins. *Oper Dent.* 2014;39(4):441-8.
46. Moore BK, Platt JA, Borges G, et al. Depth of cure of dental resin composites: ISO 4049 depth and microhardness of types of materials and shades. *Oper Dent.* 2008;33(4):408-12.
47. Moszner N, Fischer UK, Ganster B, et al. Benzoyl germanium derivatives as novel visible light photoinitiators for dental materials. *Dent Mater.* 2008;24(7):901-7.
48. Ilie N, Hickel R. Investigations on a methacrylate-based flowable composite based on the SDR technology. *Dent Mater.* 2011;27(4):348-55.
49. Ilie N, Stawarczyk B. Evaluation of modern bioactive restoratives for bulk-fill placement. *J Dent.* 2016;49:46-53.
50. Ilie N, Jelen E, Luedemann T, et al. Low-shrinkage composite for dental application. *Dent Mater J.* 2007;26(2):149-55.
51. Kim RJ, Kim YJ, Choi NS, et al. Polymerization shrinkage, modulus, and shrinkage stress related to tooth-restoration interfacial debonding in bulk-fill composites. *J Dent.* 2015;43(4):430-9.
52. Fok AS. Shrinkage stress development in dental composites--an analytical treatment. *Dent Mater.* 2013;29(11):1108-15.
53. Tantbirojn D, Pfeifer CS, Braga RR, et al. Do low-shrink composites reduce polymerization shrinkage effects? *J Dent Res.* 2011;90(5):596-601.
54. Ilie N, Bucuta S, Draenert M. Bulk-fill resin-based composites: an in vitro assessment of their mechanical performance. *Oper Dent.* 2013;38(6):618-25.
55. Ilie N, Fleming GJ. In vitro comparison of polymerisation kinetics and the micro-mechanical properties of low and high viscosity giomers and RBC materials. *J Dent.* 2015;43(7):814-22.
56. Itota T, Carrick TE, Yoshiyama M, et al. Fluoride release and recharge in giomer, compomer and resin composite. *Dent Mater.* 2004;20(9):789-95.

57. Lien W, Vandewalle KS. Physical properties of a new silorane-based restorative system. *Dent Mater.* 2010;26(4):337-44.
58. Yoshihara K, Nagaoka N, Maruo Y, et al. Bacterial adhesion not inhibited by ion-releasing bioactive glass filler. *Dent Mater.* 2017;33(6):723-34.
59. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, et al. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res.* 2004;83(6):454-8.
60. Poitevin A, De Munck J, Van Ende A, et al. Bonding effectiveness of self-adhesive composites to dentin and enamel. *Dent Mater.* 2013;29(2):221-30.
61. Wei YJ, Silikas N, Zhang ZT, et al. Diffusion and concurrent solubility of self-adhering and new resin-matrix composites during water sorption/desorption cycles. *Dent Mater.* 2011;27(2):197-205.
62. Nedeljkovic I, Van Landuyt KL. Secondary Caries. In: Miletic V, editor. *Dental Composite Materials for Direct Restorations*: Springer International; 2018. p. 235-243.
63. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet.* 2007;369(9555):51-9.
64. Jokstad A. Secondary caries and microleakage. *Dent Mater.* 2016;32(1):11-25.
65. Nedeljkovic I, Teughels W, De Munck J, et al. Is secondary caries with composites a material-based problem? *Dent Mater.* 2015;31(11):e247-77.
66. ten Cate JM, van Duinen RN. Hypermineralization of dentinal lesions adjacent to glass-ionomer cement restorations. *J Dent Res.* 1995;74(6):1266-71.
67. Farrugia C, Camilleri J. Antimicrobial properties of conventional restorative filling materials and advances in antimicrobial properties of composite resins and glass ionomer cements-A literature review. *Dent Mater.* 2015;31(4):e89-99.
68. Zalkind MM, Keisar O, Ever-Hadani P, et al. Accumulation of *Streptococcus mutans* on light-cured composites and amalgam: an in vitro study. *J Esthet Dent.* 1998;10(4):187-90.
69. Neves AA, Jaecques S, Van Ende A, et al. 3D-microleakage assessment of adhesive interfaces: exploratory findings by mCT. *Dent Mater.* 2014;30(8):799-807.
70. Opdam NJ, van de Sande FH, Bronkhorst E, et al. Longevity of posterior composite restorations: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res.* 2014;93(10):943-9.
71. Moraschini V, Fai CK, Alto RM, et al. Amalgam and resin composite longevity of posterior restorations: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2015;43(9):1043-50.
72. Ferracane JL. Placing dental composites - a stressful experience. *Oper Dent.* 2008;33(3):247-57.

73. Khvostenko D, Salehi S, Naleway SE, et al. Cyclic mechanical loading promotes bacterial penetration along composite restoration marginal gaps. *Dent Mater.* 2015;31(6):702-10.
74. Carrilho M, D'Alpino PHP. Future Perspectives for Dental Composites. In: Miletic V, editor. *Dental Composite Materials for Direct Restorations*: Springer International; 2018. p. 291-301.
75. Marovic D, Tarle Z, Hiller KA, et al. Effect of silanized nanosilica addition on remineralizing and mechanical properties of experimental composite materials with amorphous calcium phosphate. *Clin Oral Investig.* 2014;18(3):783-92.
76. Skrtic D, Antonucci JM, Eanes ED. Amorphous Calcium Phosphate-Based Bioactive Polymeric Composites for Mineralized Tissue Regeneration. *J Res Natl Inst Stand Technol.* 2003;108(3):167-82.
77. Zhang L, Weir MD, Chow LC, et al. Novel rechargeable calcium phosphate dental nanocomposite. *Dent Mater.* 2016;32(2):285-93.
78. Chiari MD, Rodrigues MC, Xavier TA, et al. Mechanical properties and ion release from bioactive restorative composites containing glass fillers and calcium phosphate nano-structured particles. *Dent Mater.* 2015;31(6):726-33.
79. Tauböck TT, Zehnder M, Schweizer T, et al. Functionalizing a dentin bonding resin to become bioactive. *Dent Mater.* 2014;30(8):868-75.
80. Dorozhkin SV. Amorphous calcium (ortho)phosphates. *Acta Biomater.* 2010;6(12):4457-75.
81. Hashimoto M, Iijima M, Nagano F, et al. Effect of monomer composition on crystal growth by resin containing bioglass. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2010;94(1):127-33.
82. Zhang F, Allen AJ, Levine LE, et al. Structural and dynamical studies of acid-mediated conversion in amorphous-calcium-phosphate based dental composites. *Dent Mater.* 2014;30(10):1113-25.
83. Preston AJ, Higham SM, Agalamanyi EA, et al. Fluoride recharge of aesthetic dental materials. *J Oral Rehabil.* 1999;26(12):936-40.
84. Khvostenko D, Mitchell JC, Hilton TJ, et al. Mechanical performance of novel bioactive glass containing dental restorative composites. *Dent Mater.* 2013;29(11):1139-48.

85. Oral O, Lassila LV, Kumbuloglu O, et al. Bioactive glass particulate filler composite: Effect of coupling of fillers and filler loading on some physical properties. *Dent Mater.* 2014;30(5):570-7.
86. Marović D, Šariri K, Demoli N, et al. Remineralizing amorphous calcium phosphate based composite resins: the influence of inert fillers on monomer conversion, polymerization shrinkage, and microhardness. *Croat Med J.* 2016;57(5):465-73.
87. Marovic D, Tarle Z, Ristic M, et al. Influence of different types of fillers on the degree of conversion of ACP composite resins. *Acta Stomatol Croat.* 2011;45(4):231-8.
88. Xu HH, Sun L, Weir MD, et al. Nano DCPA-Whisker Composites with High Strength and Ca and PO₄ Release. *J Dent Res.* 2008;85(8):722-7.
89. Skrtic D, Antonucci JM. Dental composites based on amorphous calcium phosphate - resin composition/physicochemical properties study. *J Biomater Appl.* 2007;21(4):375-93.
90. Cheng L, Weir MD, Xu HH, et al. Antibacterial and physical properties of calcium-phosphate and calcium-fluoride nanocomposites with chlorhexidine. *Dent Mater.* 2012;28(5):573-83.
91. Zhang K, Zhang N, Weir MD, et al. Bioactive dental composites and bonding agents having remineralizing and antibacterial characteristics. *Dent Clin North Am.* 2017;61(4):669-87.
92. Stoor P, Söderling E, Salonen JI. Antibacterial effects of a bioactive glass paste on oral microorganisms. *Acta Odontol Scand.* 2009;56(3):161-5.
93. Davis HB, Gwinner F, Mitchell JC, et al. Ion release from, and fluoride recharge of a composite with a fluoride-containing bioactive glass. *Dent Mater.* 2014;30(10):1187-94.
94. Skrtic D, Antonucci JM, McDonough WG, et al. Effect of chemical structure and composition of the resin phase on mechanical strength and vinyl conversion of amorphous calcium phosphate-based composites. *J Biomed Mater Res A.* 2004;68(4):763-72.
95. Skrtic D, Hailer AW, Takagi S, et al. Quantitative assessment of the efficacy of amorphous calcium phosphate/methacrylate composites in remineralizing caries-like lesions artificially produced in bovine enamel. *J Dent Res.* 1996;75(9):1679-86.
96. Skrtic D, Antonucci JM. Bioactive polymeric composites for tooth mineral regeneration: physicochemical and cellular aspects. *J Funct Biomater.* 2011;2(3):271-307.

97. Rahaman MN, Day DE, Bal BS, et al. Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomater.* 2011;7(6):2355-73.
98. Jones JR. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta Biomater.* 2013;9(1):4457-86.
99. Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med.* 2006;17(11):967-78.
100. Kaur G, Pandey OP, Singh K, et al. A review of bioactive glasses: Their structure, properties, fabrication and apatite formation. *J Biomed Mater Res A.* 2014;102(1):254-74.
101. Fernando D, Attik N, Pradelle-Plasse N, et al. Bioactive glass for dentin remineralization: A systematic review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017;76:1369-77.
102. Khvostenko D, Hilton TJ, Ferracane JL, et al. Bioactive glass fillers reduce bacterial penetration into marginal gaps for composite restorations. *Dent Mater.* 2016;32(1):73-81.
103. Chatzistavrou X, Velamakanni S, DiRenzo K, et al. Designing dental composites with bioactive and bactericidal properties. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2015;52:267-72.
104. Kulkova J, Abdulmajeed AA, Kononen E, et al. Biofilm medium leads to apatite formation on bioactive surfaces. *J Appl Biomater Funct Mater.* 2013;11(2):e95-8.
105. Tezvergil-Mutluay A, Seseogullari-Dirihan R, Feitosa VP, et al. Effects of composites containing bioactive glasses on demineralized dentin. *J Dent Res.* 2017;96(9):999-1005.
106. Yang SY, Kwon JS, Kim KN, et al. Enamel surface with pit and fissure sealant containing 45S5 bioactive glass. *J Dent Res.* 2016;95(5):550-7.
107. Milly H, Festy F, Watson TF, et al. Enamel white spot lesions can remineralise using bio-active glass and polyacrylic acid-modified bio-active glass powders. *J Dent.* 2014;42(2):158-66.
108. Wang Z, Jiang T, Sauro S, et al. Dentine remineralization induced by two bioactive glasses developed for air abrasion purposes. *J Dent.* 2011;39(11):746-56.
109. Vollenweider M, Brunner TJ, Knecht S, et al. Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomater.* 2007;3(6):936-43.
110. Bauer J, Carvalho EM, Carvalho CN, et al. Development of a simplified etch-and-rinse adhesive containing niobiophosphate bioactive glass. *Int J Adhes Adhes.* 2016;69:110-4.

111. Profeta AC. Dentine bonding agents comprising calcium-silicates to support proactive dental care: Origins, development and future. *Dent Mater J*. 2014;33(4):443-52.
112. Profeta AC. Preparation and properties of calcium-silicate filled resins for dental restoration. Part I: chemical-physical characterization and apatite-forming ability. *Acta Odontol Scand*. 2014;72(8):597-606.
113. Profeta AC, Mannocci F, Foxton RM, et al. Bioactive effects of a calcium/sodium phosphosilicate on the resin-dentine interface: a microtensile bond strength, scanning electron microscopy, and confocal microscopy study. *Eur J Oral Sci*. 2012;120(4):353-62.
114. Sauro S, Osorio R, Watson TF, et al. Therapeutic effects of novel resin bonding systems containing bioactive glasses on mineral-depleted areas within the bonded-dentine interface. *J Mater Sci Mater Med*. 2012;23(6):1521-32.
115. Sauro S, Osorio R, Fulgêncio R, et al. Remineralisation properties of innovative light-curable resin-based dental materials containing bioactive micro-fillers. *J Mater Chem B*. 2013;1(20):2624.
116. Osorio R, Yamauti M, Sauro S, et al. Experimental resin cements containing bioactive fillers reduce matrix metalloproteinase-mediated dentin collagen degradation. *J Endod*. 2012;38(9):1227-32.
117. Allan I, Newman H, Wilson M. Antibacterial activity of particulate bioglass against supra- and subgingival bacteria. *Biomaterials*. 2001;22(12):1683-87.
118. Gubler M, Brunner TJ, Zehnder M, et al. Do bioactive glasses convey a disinfecting mechanism beyond a mere increase in pH? *Int Endod J*. 2008;41(8):670-78.
119. Waltimo T, Brunner TJ, Vollenweider M, et al. Antimicrobial effect of nanometric bioactive glass 45S5. *J Dent Res*. 2007;86(8):754-7.
120. Tarle Z, Par M. Degree of Conversion. In: Miletic V, editor. *Dental Composite Materials for Direct Restorations*: Springer International; 2018. p. 63-85.
121. Ferracane JL, Greener EH. Fourier transform infrared analysis of degree of polymerization in unfilled resins--methods comparison. *J Dent Res*. 1984;63(8):1093-5.
122. Par M, Gamulin O, Marovic D, et al. Effect of temperature on post-cure polymerization of bulk-fill composites. *J Dent*. 2014;42(10):1255-60.
123. Par M, Gamulin O, Marovic D, et al. Conversion and temperature rise of remineralizing composites reinforced with inert fillers. *J Dent*. 2016;48:26-33.

124. Musanje L, Ferracane JL. Effects of resin formulation and nanofiller surface treatment on the properties of experimental hybrid resin composite. *Biomaterials*. 2004;25(18):4065-71.
125. Ely C, Schneider LF, Ogliari FA, et al. Polymerization kinetics and reactivity of alternative initiators systems for use in light-activated dental resins. *Dent Mater*. 2012;28(12):1199-206.
126. Lovell LG, Newman SM, Bowman CN. The effects of light intensity, temperature, and comonomer composition on the polymerization behavior of dimethacrylate dental resins. *J Dent Res*. 1999;78(8):1469-76.
127. Gajewski VE, Pfeifer CS, Fróes-Salgado NR, et al. Monomers used in resin composites: degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility. *Braz Dent J*. 2012;23(5):508-14.
128. Halvorson RH, Erickson RL, Davidson CL. The effect of filler and silane content on conversion of resin-based composite. *Dent Mater*. 2003;19(4):327-33.
129. Nomoto R, Asada M, McCabe JF, et al. Light exposure required for optimum conversion of light activated resin systems. *Dent Mater*. 2006;22(12):1135-42.
130. Halvorson RH, Erickson RL, Davidson CL. Energy dependent polymerization of resin-based composite. *Dent Mater*. 2002;18(6):463-9.
131. Tauböck TT, Tarle Z, Marovic D, et al. Pre-heating of high-viscosity bulk-fill resin composites: effects on shrinkage force and monomer conversion. *J Dent*. 2015;43(11):1358-64.
132. Pilo R, Cardash HS. Post-irradiation polymerization of different anterior and posterior visible light-activated resin composites. *Dent Mater*. 1992;8(5):299-304.
133. Par M, Lapas-Barisic M, Gamulin O, et al. Long Term Degree of Conversion of two Bulk-Fill Composites. *Acta Stomatol Croat*. 2016;50(4):292-300.
134. Bouschlicher MR, Rueggeberg FA, Wilson BM. Correlation of bottom-to-top surface microhardness and conversion ratios for a variety of resin composite compositions. *Oper Dent*. 2004;29(6):698-704.
135. Ferracane JL, Greener EH. The effect of resin formulation on the degree of conversion and mechanical properties of dental restorative resins. *J Biomed Mater Res*. 1986;20(1):121-31.
136. Dewaele M, Asmussen E, Peutzfeldt A, et al. Influence of curing protocol on selected properties of light-curing polymers: degree of conversion, volume contraction, elastic modulus, and glass transition temperature. *Dent Mater*. 2009;25(12):1576-84.

137. Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater.* 2006;22(3):211-22.
138. Van Landuyt KL, Nawrot T, Geebelen B, et al. How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dent Mater.* 2011;27(8):723-47.
139. Asmussen E, Peutzfeldt A. Influence of selected components on crosslink density in polymer structures. *Eur J Oral Sci.* 2001;109(4):282-5.
140. Pearson GJ, Longman CM. Water sorption and solubility of resin-based materials following inadequate polymerization by a visible-light curing system. *J Oral Rehabil.* 1989;16(1):57-61.
141. Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, et al. Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials.* 2005;26(33):6449-59.
142. Yiu CK, King NM, Pashley DH, et al. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomaterials.* 2004;25(26):5789-96.
143. Rueggeberg FA, Tamareselvy K. Resin cure determination by polymerization shrinkage. *Dent Mater.* 1995;11(4):265-8.
144. Schneider LF, Cavalcante LM, Silikas N. Shrinkage Stresses Generated during Resin-Composite Applications: A Review. *J Dent Biomech.* 2010;2010.
145. Braga RR, Ballester RY, Ferracane JL. Factors involved in the development of polymerization shrinkage stress in resin-composites: a systematic review. *Dent Mater.* 2005;21(10):962-70.
146. Shortall AC, Harrington E. Temperature rise during polymerization of light-activated resin composites. *J Oral Rehabil.* 1998;25(12):908-13.
147. Miyazaki K, Horibe T. Polymerization of multifunctional methacrylates and acrylates. *J Biomed Mater Res.* 1988;22(11):1011-22.
148. Rueggeberg FA, Craig RG. Correlation of Parameters used to Estimate Monomer Conversion in a Light-cured Composite. *J Dent Res.* 1988;67(6):932-37.
149. Ferracane JL. Correlation between hardness and degree of conversion during the setting reaction of unfilled dental restorative resins. *Dent Mater.* 1985;1(1):11-4.
150. Miletic V, Santini A. Micro-Raman spectroscopic analysis of the degree of conversion of composite resins containing different initiators cured by polywave or monowave LED units. *J Dent.* 2012;40(2):106-13.
151. Pianelli C, Devaux J, Bebelman S, et al. The micro-Raman spectroscopy, a useful tool to determine the degree of conversion of light-activated composite resins. *J Biomed Mater Res.* 1999;48(5):675-81.

152. Ilie N, Durner J. Polymerization kinetic calculations in dental composites: a method comparison analysis. *Clin Oral Investig.* 2014;18(6):1587-96.
153. Smith BC. *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy.* 2nd ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2011.
154. Oliveira D. Esthetics of Dental Composites. In: Miletic V, editor. *Dental Composite Materials for Direct Restorations: Springer International*; 2018. p. 155-176.
155. Masotti AS, Onofrio AB, Conceicao EN, et al. UV-vis spectrophotometric direct transmittance analysis of composite resins. *Dent Mater.* 2007;23(6):724-30.
156. Arikawa H, Fujii K, Kanie T, et al. Light transmittance characteristics of light-cured composite resins. *Dent Mater.* 1998;14(6):405-11.
157. dos Santos GB, Alto RV, Filho HR, et al. Light transmission on dental resin composites. *Dent Mater.* 2008;24(5):571-6.
158. Kawaguchi M, Fukushima T, Miyazaki K. The relationship between cure depth and transmission coefficient of visible-light-activated resin composites. *J Dent Res.* 1994;73(2):516-21.
159. Arimoto A, Nakajima M, Hosaka K, et al. Translucency, opalescence and light transmission characteristics of light-cured resin composites. *Dent Mater.* 2010;26(11):1090-97.
160. Par M, Repusic I, Skenderovic H, et al. Real-time Light Transmittance Monitoring for Determining Polymerization Completeness of Conventional and Bulk Fill Dental Composites. *Oper Dent.* 2018;43(1):E19-E31.
161. Par M, Marovic D, Skenderovic H, et al. Light transmittance and polymerization kinetics of amorphous calcium phosphate composites. *Clin Oral Investig.* 2017;21(4):1173-82.
162. Howard B, Wilson ND, Newman SM, et al. Relationships between conversion, temperature and optical properties during composite photopolymerization. *Acta Biomater.* 2010;6(6):2053-59.
163. Ruyter IE, Øysæd H. Conversion in different depths of ultraviolet and visible light activated composite materials. *Acta Odontol Scand.* 1982;40(3):179-92.
164. Arikawa H, Kanie T, Fujii K, et al. Effect of filler properties in composite resins on light transmittance characteristics and color. *Dent Mater J.* 2007;26(1):38-44.
165. Clewell DH. Scattering of light by pigment particles. *J Opt Soc Am.* 1941;31(8):521-7.

166. Azzopardi N, Moharamzadeh K, Wood DJ, et al. Effect of resin matrix composition on the translucency of experimental dental composite resins. *Dent Mater.* 2009;25(12):1564-68.
167. Harrington E, Wilson HJ, Shortall AC. Light-activated restorative materials: a method of determining effective radiation times. *J Oral Rehabil.* 1996;23(3):210-8.
168. Shortall AC, Palin WM, Burtscher P. Refractive index mismatch and monomer reactivity influence composite curing depth. *J Dent Res.* 2008;87(1):84-8.
169. Fujita K, Nishiyama N, Nemoto K, et al. Effect of base monomer's refractive index on curing depth and polymerization conversion of photo-cured resin composites. *Dent Mater J.* 2005;24(3):403-8.
170. Ilie N. Impact of light transmittance mode on polymerisation kinetics in bulk-fill resin-based composites. *J Dent.* 2017;63:51-9.
171. Emami N, Sjodahl M, Soderholm KJ. How filler properties, filler fraction, sample thickness and light source affect light attenuation in particulate filled resin composites. *Dent Mater.* 2005;21(8):721-30.
172. Uhl A, Mills RW, Jandt KD. Polymerization and light-induced heat of dental composites cured with LED and halogen technology. *Biomaterials.* 2003;24(10):1809-20.
173. Yazici AR, Muftu A, Kugel G, et al. Comparison of temperature changes in the pulp chamber induced by various light curing units, in vitro. *Oper Dent.* 2006;31(2):261-5.
174. Price RB, Shortall AC, Palin WM. Contemporary issues in light curing. *Oper Dent.* 2014;39(1):4-14.
175. Ilie N, Kunzelmann KH, Visvanathan A, et al. Curing behavior of a nanocomposite as a function of polymerization procedure. *Dent Mater J.* 2005;24(4):469-77.
176. Mouhat M, Mercer J, Stangvaltaite L, et al. Light-curing units used in dentistry: factors associated with heat development-potential risk for patients. *Clin Oral Investig.* 2017;21(5):1687-96.
177. Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965;19:515-30.
178. Ingle JI, Bakland LK, Baumgartner JC. *Ingle's Endodontics.* Lewiston, NY, USA: BC Decker; 2008.
179. Daronch M, Rueggeberg FA, Hall G, et al. Effect of composite temperature on in vitro intrapulpal temperature rise. *Dent Mater.* 2007;23(10):1283-8.

180. Baldissara P, Catapano S, Scotti R. Clinical and histological evaluation of thermal injury thresholds in human teeth: a preliminary study. *J Oral Rehabil.* 1997;24(11):791-801.
181. Park SH, Roulet JF, Heintze SD. Parameters influencing increase in pulp chamber temperature with light-curing devices: curing lights and pulpal flow rates. *Oper Dent.* 2010;35(3):353-61.
182. Bouillaguet S, Caillot G, Forchelet J, et al. Thermal risks from LED- and high-intensity QTH-curing units during polymerization of dental resins. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005;72(2):260-7.
183. Janda R, Roulet JF, Latta M, et al. Water sorption and solubility of contemporary resin-based filling materials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2007;82(2):545-51.
184. Braden M, Causton EE, Clarke RL. Diffusion of water in composite filling materials. *J Dent Res.* 1976;55(5):730-2.
185. Sideridou I, Achilias DS, Spyroudi C, et al. Water sorption characteristics of light-cured dental resins and composites based on Bis-EMA/PCDMA. *Biomaterials.* 2004;25(2):367-76.
186. Skrtic D, Antonucci JM, Liu DW. Ethoxylated bisphenol dimethacrylate-based amorphous calcium phosphate composites. *Acta Biomater.* 2006;2(1):85-94.
187. Soh MS, Yap AU. Influence of curing modes on crosslink density in polymer structures. *J Dent.* 2004;32(4):321-6.
188. Martin N, Jedynakiewicz N. Measurement of water sorption in dental composites. *Biomaterials.* 1998;19(1-3):77-83.
189. Španović N, Par M, Marovic D, et al. Development of experimental bioactive composites with reduced water sorption. *Acta Stomatol Croat.* 2017;51(3):257.
190. Wei YJ, Silikas N, Zhang ZT, et al. Hygroscopic dimensional changes of self-adhering and new resin-matrix composites during water sorption/desorption cycles. *Dent Mater.* 2011;27(3):259-66.
191. Regnault WF, Icenogle TB, Antonucci JM, et al. Amorphous calcium phosphate/urethane methacrylate resin composites. I. Physicochemical characterization. *J Mater Sci Mater Med.* 2008;19(2):507-15.
192. International Organization for Standardization. ISO 4049: Dentistry - Polymer-based filling, restorative and luting materials. 2000.

193. Tauböck TT, Marovic D, Zeljezic D, et al. Genotoxic potential of dental bulk-fill resin composites. *Dent Mater.* 2017;33(7):788-95.
194. Ortengren U, Wellendorf H, Karlsson S, et al. Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in an aqueous environment. *J Oral Rehabil.* 2001;28(12):1106-15.
195. Xu HH, Weir MD, Sun L. Calcium and phosphate ion releasing composite: effect of pH on release and mechanical properties. *Dent Mater.* 2009;25(4):535-42.
196. Flury S, Hayoz S, Peutzfeldt A, et al. Depth of cure of resin composites: is the ISO 4049 method suitable for bulk fill materials? *Dent Mater.* 2012;28(5):521-28.
197. Price RB, Rueggeberg FA, Harlow J, et al. Effect of mold type, diameter, and uncured composite removal method on depth of cure. *Clin Oral Investig.* 2016;20(7):1699-1707.
198. Leprince JG, Leveque P, Nysten B, et al. New insight into the "depth of cure" of dimethacrylate-based dental composites. *Dent Mater.* 2012;28(5):512-20.
199. AlShaafi MM, Haenel T, Sullivan B, et al. Effect of a broad-spectrum LED curing light on the Knoop microhardness of four posterior resin based composites at 2, 4 and 6-mm depths. *J Dent.* 2016;45:14-8.
200. Della Bona A, Wozniak WT, Watts DC. International dental standards--order out of chaos? *Dent Mater.* 2011;27(7):619-21.
201. Asaoka K, Hirano S. Diffusion coefficient of water through dental composite resin. *Biomaterials.* 2003;24(6):975-9.
202. Par M, Spanovic N, Bjelovucic R, et al. Surface precipitation of hydroxyapatite by experimental bioactive glass-containing composites. *J Dent Res.* 2017;96(Spec Iss A):Abstract number: 0729.
203. Beun S, Glorieux T, Devaux J, et al. Characterization of nanofilled compared to universal and microfilled composites. *Dent Mater.* 2007;23(1):51-9.
204. Loof J, Svahn F, Jarmar T, et al. A comparative study of the bioactivity of three materials for dental applications. *Dent Mater.* 2008;24(5):653-9.
205. Bohner M, Lemaître J. Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution? *Biomaterials.* 2009;30(12):2175-9.
206. Damen JJ, ten Cate JM. The effect of silicic acid on calcium phosphate precipitation. *J Dent Res.* 1989;68(9):1355-9.

207. Li P, Nakanishi K, Kokubo T, et al. Induction and morphology of hydroxyapatite, precipitated from metastable simulated body fluids on sol-gel prepared silica. *Biomaterials*. 1993;14(13):963-8.
208. V. dAPD. Saliva composition and functions: A comprehensive review. *J Contemp Dent Pract*. 2008;9(3):72-80.
209. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, et al. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*. 2010;89(11):1187-97.
210. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J*. 1992;172:305-12.
211. Baicu SC, Taylor MJ. Acid-base buffering in organ preservation solutions as a function of temperature: new parameters for comparing buffer capacity and efficiency. *Cryobiology*. 2002;45(1):33-48.
212. Rabiee SM, Nazparvar N, Azizian M, et al. Effect of ion substitution on properties of bioactive glasses: A review. *Ceram Int*. 2015;41(6):7241-51.
213. Hild N, Tawakoli PN, Halter JG, et al. pH-dependent antibacterial effects on oral microorganisms through pure PLGA implants and composites with nanosized bioactive glass. *Acta Biomater*. 2013;9(11):9118-25.
214. Mohanty B, Dadlani D, Mahoney D, et al. Characterizing and identifying incipient carious lesions in dental enamel using micro-Raman spectroscopy. *Caries Res*. 2013;47(1):27-33.
215. Gadaleta SJ, Paschalis EP, Betts F, et al. Fourier transform infrared spectroscopy of the solution-mediated conversion of amorphous calcium phosphate to hydroxyapatite: new correlations between X-ray diffraction and infrared data. *Calcif Tissue Int*. 1996;58(1):9-16.
216. D'Alfonso AJ, Freitag B, Klenov D, et al. Atomic-resolution chemical mapping using energy-dispersive x-ray spectroscopy. *Phys Rev B*. 2010;81(10).
217. Ishikawa K, Ducheyne P, Radin S. Determination of the Ca/P ratio in calcium-deficient hydroxyapatite using X-ray diffraction analysis. *J Mater Sci Mater Med*. 1993;4(2):165-8.
218. Wang L, Nancollas GH. Calcium orthophosphates: crystallization and dissolution. *Chem Rev*. 2008;108(11):4628-69.
219. Sobkowiak M, Painter P. A Comparison of DRIFT and KBr Pellet Methodologies for the Quantitative Analysis of Functional Groups in Coal by Infrared Spectroscopy. *Energy Fuels*. 1995;9(2):359-63.

220. Shin WS, Li XF, Schwartz B, et al. Determination of the degree of cure of dental resins using Raman and FT-Raman spectroscopy. *Dent Mater.* 1993;9(5):317-24.
221. De Santis A. Photo-polymerisation effects on the carbonyl CO bands of composite resins measured by micro-Raman spectroscopy. *Polymer.* 2005;46(14):5001-4.
222. Par M, Santic A, Gamulin O, et al. Impedance changes during setting of amorphous calcium phosphate composites. *Dent Mater.* 2016;32(11):1312-21.
223. Hannigan A, Lynch CD. Statistical methodology in oral and dental research: pitfalls and recommendations. *J Dent.* 2013;41(5):385-92.
224. Plueddemann EP. Catalytic Effects in Bonding Thermosetting Resins to Silane-Treated Fillers. *Adv Chem.* 1974;134:86-94.
225. Sen S, Nugay N. Tuning of final performances of unsaturated polyester composites with inorganic microsphere/platelet hybrid reinforcers. *Eur Polym J.* 2001;37(10):2047-53.
226. Solomon DH, Swift JD. Reactions catalyzed by minerals. Part II. Chain termination in free-radical polymerizations. *J Appl Polym Sci.* 1967;11(12):2567-75.
227. Plueddemann EP. *Silane Coupling Agents.* New York: Springer US; 1991.
228. Solomon DH. Clay minerals as electron acceptors and/or electron donors in organic reactions. *Clays Clay Miner.* 1968;16:31-9.
229. Nikolaidis AK, Achilias DS, Karayannidis GP. Effect of the type of organic modifier on the polymerization kinetics and the properties of poly(methyl methacrylate)/organomodified montmorillonite nanocomposites. *Eur Polym J.* 2012;48(2):240-51.
230. Sfalcin RA, Correr AB, Morbidelli LR, et al. Influence of bioactive particles on the chemical-mechanical properties of experimental enamel resin infiltrants. *Clin Oral Investig.* 2017;21(6):2143-51.
231. Rizk M, Hohlfeld L, Thanh LT, et al. Bioactivity and properties of a dental adhesive functionalized with polyhedral oligomeric silsesquioxanes (POSS) and bioactive glass. *Dent Mater.* 2017;33(9):1056-65.
232. Carneiro KK, Meier MM, Santos CC, et al. Adhesives doped with bioactive niobophosphate micro-filler: degree of conversion and microtensile bond strength. *Braz Dent J.* 2016;27(6):705-11.
233. Jandt KD, Mills RW. A brief history of LED photopolymerization. *Dent Mater.* 2013;29(6):605-17.

234. Moszner N, Klapdohr S. Nanotechnology for dental composites. *Int J Nanotechnol.* 2004;1(1-2):130-56.
235. Musanje L, Darvell BW. Curing-light attenuation in filled-resin restorative materials. *Dent Mater.* 2006;22(9):804-17.
236. DeWald JP, Ferracane JL. A comparison of four modes of evaluating depth of cure of light-activated composites. *J Dent Res.* 1987;66(3):727-30.
237. Price RB, Ferracane JL, Shortall AC. Light-Curing Units: A Review of What We Need to Know. *J Dent Res.* 2015;94(9):1179-86.
238. Atai M, Motevasselian F. Temperature rise and degree of photopolymerization conversion of nanocomposites and conventional dental composites. *Clin Oral Investig.* 2009;13(3):309-16.
239. Al-Qudah AA, Mitchell CA, Biagioni PA, et al. Thermographic investigation of contemporary resin-containing dental materials. *J Dent.* 2005;33(7):593-602.
240. Braden M, Clarke RL. Water absorption characteristics of dental microfine composite filling materials. I. Proprietary materials. *Biomaterials.* 1984;5(6):369-72.
241. Mortier E, Gerdolle DA, Jacquot B, et al. Importance of water sorption and solubility studies for couple bonding agent--resin-based filling material. *Oper Dent.* 2004;29(6):669-76.
242. Soderholm KJ, Mukherjee R, Longmate J. Filler leachability of composites stored in distilled water or artificial saliva. *J Dent Res.* 1996;75(9):1692-99.
243. Kalachandra S. Influence of fillers on the water sorption of composites. *Dent Mater.* 1989;5(4):283-8.
244. Söderholm KJ. Degradation of glass filler in experimental composites. *J Dent Res.* 1981;60(11):1867-75.
245. Curtis AR, Shortall AC, Marquis PM, et al. Water uptake and strength characteristics of a nanofilled resin-based composite. *J Dent.* 2008;36(3):186-93.
246. Torstenson B, Brännström M. Contraction gap under composite resin restorations: effect of hygroscopic expansion and thermal stress. *Oper Dent.* 1988;13(1):24-31.
247. Feilzer AJ, de Gee AJ, Davidson CL. Relaxation of polymerization contraction shear stress by hygroscopic expansion. *J Dent Res.* 1990;69(1):36-9.
248. Hahnel S, Henrich A, Burgers R, et al. Investigation of mechanical properties of modern dental composites after artificial aging for one year. *Oper Dent.* 2010;35(4):412-9.

249. Kangwankai K, Sani S, Panpisut P, et al. Monomer conversion, dimensional stability, strength, modulus, surface apatite precipitation and wear of novel, reactive calcium phosphate and polylysine-containing dental composites. *PLoS One*. 2017;12(11):e0187757.
250. Alania Y, Chiari MD, Rodrigues MC, et al. Bioactive composites containing TEGDMA-functionalized calcium phosphate particles: Degree of conversion, fracture strength and ion release evaluation. *Dent Mater*. 2016;32(12):e374-81.
251. Czasch P, Ilie N. In vitro comparison of mechanical properties and degree of cure of bulk fill composites. *Clin Oral Investig*. 2013;17(1):227-35.
252. Marovic D, Panduric V, Tarle Z, et al. Degree of conversion and microhardness of dental composite resin materials. *J Mol Struct*. 2013;1044:299-302.
253. Melo MA, Weir MD, Rodrigues LK, et al. Novel calcium phosphate nanocomposite with caries-inhibition in a human in situ model. *Dent Mater*. 2013;29(2):231-40.
254. Lo EC, Zhi QH, Itthagarun A. Comparing two quantitative methods for studying remineralization of artificial caries. *J Dent*. 2010;38(4):352-9.

**8. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM
OBJAVLJENIH RADOVA**

Životopis

Nika Španović rođena je u Zagrebu 12. rujna 1986. godine. Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala je 2005. godine, a diplomirala 2011. godine prema Bolonjskom visokoškolskom sustavu. Tijekom studija bila je demonstratorica u Zavodu za fiziologiju u razdoblju od 2007. do 2010. godine. Uključena je bila u rad Udruge studenata stomatologije „Zubić vila“ gdje je sudjelovala u projektima predškolskih ustanova. Aktivno je radila u stručnom studentskom listu „Sonda“ gdje je bila jedan od urednika. Za taj stručni rad i aktivnost dobila je 2011. godine posebnu Rektorovu nagradu. Upisala je Poslijediplomski doktorski studij na Stomatološkom fakultetu u Zagrebu 2011. godine. Sudjelovala je na mnogim domaćim i međunarodnim stručnim skupovima te je autor i koautor nekoliko znanstvenih i stručnih radova.

Popis radova

Radovi *in extenso*

1. Par M, **Spanovic N**, Bjelovucic R, Skenderovic H, Gamulin O, Tarle Z. Curing potential of experimental resin composites with systematically varying amount of bioactive glass: degree of conversion, light transmittance and depth of cure. J Dent 2018 (In press).
2. **Spanovic N**, Par M, Skenderovic H, Bjelovucic R, Prskalo K, Tarle Z. Real-time temperature monitoring during light-curing of experimental composites. Acta Stomatol Croat 2018 (In press).
3. Par M, Lapas-Barisic M, Gamulin O, Panduric V, **Spanovic N**, Tarle Z. Long term degree of conversion of two bulk-fill composites. Acta Stomatol Croat 2016;50(4):292-300.

Sažeci sa skupova

4. **Spanovic N**, Par M, Skenderovic H, Klaric Sever E, Marovic D, Tarle Z. Temperature rise during light curing of experimental composites containing bioactive glass. Acta Stomatol Croat 2018 (In press).
5. **Spanovic N**, Par M, Skenderovic H, Klaric Sever E, Marovic D, Tarle Z. Real-time light transmittance and temperature monitoring of experimental remineralizing composites. CED-IADR Abstract Book 2017:224.
6. Par M, **Spanovic N**, Bjelovucic R, Marovic D, Gamulin O, Tarle Z. Surface precipitation of hydroxyapatite by experimental bioactive glass-containing composites. J Dent Res 2017;96(Spec Iss A):Abstract number: 0729.
7. **Spanovic N**, Par M, Marovic D, Klaric Sever E, Gamulin O, Tarle Z. Development of experimental bioactive composites with reduced water sorption. Acta Stomatol Croat 2017;51(3):257.
8. Par M, **Spanovic N**, Gamulin O, Marovic D, Mandic V, Tarle Z. Degree of conversion of experimental bioactive glass-containing composites. Clin Oral Investig 2017;21(4):1368.
9. Bjelovucic R, Par M, **Spanovic N**, Klaric Sever E, Marovic D, Tarle Z. Depth of cure of experimental bioactive composites by ISO 4049 – a comparison with Raman spectroscopy. Acta Stomatol Croat 2017;51(3):257.